

N° D'ORDRE

77

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

ROBERT MAROT

PREMIÈRE THÈSE. — Sur la composition chimique comparée des
protéides dans les tumeurs et dans les tissus
sains provenant du même organe.

DEUXIÈME THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 1943 devant la Commission d'examen.

MM. MATHIAS		<i>Président.</i>
EMBERGER		} <i>Assesseurs.</i>
MOUSSERON	..	
CRISTOL		

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA PRESSE
3, rue Jardin-Martel, 3

1943

SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE COMPAREE
DES PROTEIDES DANS LES TUMEURS
ET DANS LES TISSUS SAINS
PROVENANT DU MEME ORGANE

N° D'ORDRE

77

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

ROBERT MAROT

PREMIÈRE THÈSE. — Sur la composition chimique comparée des
protéides dans les tumeurs et dans les tissus
sains provenant du même organe.

DEUXIÈME THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

1943 devant la Commission d'examen,

MM. MATHIAS *Président,*

EMBERGER

MOUSSERON ..

CRISTOL

Assesseurs,

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA PRESSE
3, rue Jardin-Martel, 3

—
1943

FACULTE DES SCIENCES

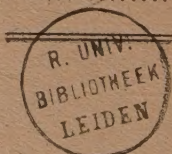
DE

L'UNIVERSITE DE MONTPELLIER

	MM.	
<i>Doyen</i>	P. MATHIAS, Professeur de Zoologie et Biologie générale.	
<i>Professeurs honoraires</i>	{ E. FABRY, E. BATAILLON, R. JACQUES, J. PAVILLARD, J. CABANNES et E. CHATTON.	
<i>Maîtres de Conférences honoraires</i>	F. MOURGUES et L. MAURY.	
	MM.	
<i>Professeurs</i>	{ G. REBOUL Physique. E. TURRIERE Mécanique rationnelle. P. HUMBERT Mathématiques pures. L. GAY Chimie. J. SOULA Mathématiques. E. CARRIERE Chimie. L. EMBERGER Botanique. Ch. BOUHET Physique. M. CASTERAS Géologie. M. MOUSSERON Chimie. P. CHATELAIN Minéralogie.	
	MM.	
<i>Maître de Conférences</i>	{ O. TUZET (Mlle) Zoologie. P. REMY Chimie. G. MALECOT Mathématiques.	
<i>Secrétaire</i>	M. BOSC	
<i>Secrétaire honoraire</i>	L. DUBOIS	

MEMBRES DU JURY

MM.	
MATHIAS	Président.
EMBERGER	{ Assesseurs.
MOUSSERON	
CRISTOL	



A MA MERE ET A MA FEMME

*Nous ne voulons pas séparer ici
celles qui eurent pour but notre
bonheur.*

A MES FILLES, JANINE ET ANNICK

A TOUS MES AMIS

À MON MAÎTRE,
MONSIEUR LE PROFESSEUR P. CRISTOL

A MONSIEUR LE DOYEN MATHIAS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MOUSSERON

A MONSIEUR LE PROFESSEUR EMBERGER

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGÉ MONNIER

A MONSIEUR LE MEDECIN-GENERAL
LAMBERT DES CILLEULS

A MES CHEFS ET A MES MAITRES
DANS LES HOPITAUX MILITAIRES

A MONSIEUR LE DOYEN
ET A MESSIEURS LES PROFESSEURS
DE LA FACULTE DE MEDECINE DE MONTPELLIER

AVANT-PROPOS

Avant d'aborder l'exposé de nos études expérimentales, nous désirons unir dans un même sentiment de gratitude tous nos maîtres, dont l'enseignement, les conseils et l'exemple nous ont permis de suivre la voie que nous nous étions tracée et de réaliser ce travail dont nous les prions de bien vouloir agréer l'hommage.

J'adresse mes remerciements à Monsieur le Doyen MATHIAS qui a bien voulu accepter la présidence de cette thèse. C'est une nouvelle marque de la sympathie qu'il n'a jamais cessé de nous témoigner, depuis l'époque où nous avons eu l'honneur d'être de ses élèves.

Nous avons toujours reçu de Monsieur le Professeur MOUSSERON, qui est aujourd'hui notre juge, l'accueil le plus cordial. En plusieurs circonstances, nous fûmes séduit par l'élégance de sa pensée et le prestige de son savoir. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de toute notre admiration.

Nous remercions également Monsieur le Professeur EMBERGER, pour tout l'intérêt qu'il a pris à nos recherches et pour son acceptation de prendre part à notre jury.

A Monsieur le Professeur CRISTOL, qui nous suggéra cette étude, il nous sera difficile d'exprimer toute notre reconnaissance. Admis à collaborer à ses côtés, guidé par ses conseils, encouragé par son exemple, ce sentiment s'est enrichi du profond attachement que nous lui avons désor-

mais voué. Puisse-t-il reconnaître dans cet ouvrage le fruit de son précieux enseignement et le reflet de quelques conceptions qui lui sont chères.

A Monsieur le Professeur agrégé MONNIER, nous exprimons nos sentiments de vive gratitude. Il a bien voulu nous faire bénéficier de sa grande expérience alors que nous nous engagions sur un chemin nouveau, et tout parsemé d'embûches. Nous n'oublierons pas qu'il a sans cesse orienté nos recherches, prenant souvent sur lui-même d'en aplanir les difficultés.

Nous unissons dans un même sentiment amical le Docteur LAZERGES à qui nous devons d'avoir été introduit au Laboratoire de Chimie biologique, et le Docteur BÉNÉZECH qui a mis toutes ses qualités à notre disposition pour nous faciliter l'élaboration de ce travail.

Nous prions Monsieur le Médecin Général LAMBERT DES CILLEULS, qui fut toujours pour nous un chef attentif et bienveillant, de bien vouloir trouver ici l'expression de nos sentiments respectueux et dévoués.

Enfin notre mémoire reconnaissante se porte vers tous ceux qui nous prodiguèrent leurs dons d'éducateurs et dont l'influence fut prépondérante sur la formation de notre esprit. C'est ainsi que nous adressons à nos maîtres du Val-de-Grâce et de l'Hôpital Desgenettes, à notre premier « patron » le Docteur MICHEL et au Professeur agrégé JUSTIN-BESANÇON qui dirigea nos débuts en médecine, l'hommage de notre souvenir fidèle et ému.

SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE COMPARÉE DES PROTEIDES DANS LES TUMEURS ET DANS LES TISSUS SAINS PROVENANT DU MEME ORGANE

INTRODUCTION

Les acquisitions nouvelles de la biochimie et de la biophysique, le bouleversement apporté à ces sciences par des découvertes aussi fécondes que celles des colloïdes, des vitamines ou des phénomènes de radioactivité, marquent sur la route de l'évolution médicale une étape des plus importantes.

L'étude des tumeurs est de plus en plus influencée par cette orientation scientifique moderne. Trop longtemps cantonnée dans le cadre des disciplines purement morphologiques, elle se dégage peu à peu de ces limites trop étroites pour venir emprunter à toutes les branches de la biologie générale les méthodes dont elle a besoin. Actuellement, chimistes, physiciens, bactériologistes, généticiens, s'efforcent tous, par des voies différentes, de déchiffrer l'énigme du cancer, pénétrant ainsi dans un domaine qui fut pendant longtemps considéré comme l'apanage exclusif de l'anatomo-pathologiste et du clinicien.

Et cependant, malgré la somme considérable des travaux accumulés — travaux auxquels s'attachent souvent les noms les plus illustres — le problème du cancer demeure encore enveloppé d'un voile épais.

Pourquoi donc une cellule, qui s'était toujours conformée jusqu'alors aux lois de croissance du tissu auquel elle appartient, refuse-t-elle tout à coup d'obéir à ces lois pour se mettre à croître et à proliférer à une vitesse vertigineuse? Pourquoi rompt-elle ainsi avec le « standard » de vie auquel elle paraissait s'être accoutumée? Sous quelle influence se détache-t-elle de l'ensemble harmonieux qui caractérise l'état normal pour mener soudain une existence désordonnée et souvent vagabonde? Autant de questions qui, il faut bien l'avouer, sont encore loin d'avoir reçu une réponse définitive. Et l'on est en droit de se demander si, à l'origine de ces variations pathologiques, il n'existerait pas un facteur simple, élémentaire, mais d'un ordre nouveau, d'autant plus difficile à déceler qu'il touche justement de plus près à l'essence même de la vie.

Devant l'échec de toutes les tentatives faites jusqu'à ce jour, il serait toutefois injuste de conclure à l'inutilité des efforts fournis par nos devanciers. Si ceux-ci ne sont pas parvenus, malgré leur opiniâtreté, à vaincre les obstacles contre lesquels nous continuons à buter, au moins auront-ils eu le mérite de nous avoir déblayé la voie, et d'avoir posé les premiers jalons sur le chemin qu'il nous reste encore à parcourir.

*
**

Lorsque PASTEUR et son Ecole découvrirent les agents microscopiques des maladies infectieuses et permirent ainsi à la science médicale d'effectuer un bond décisif en avant, un grand espoir naquit aussitôt chez tous ceux qui s'étaient donnés pour tâche de rechercher la cause du cancer. *Les théories microbiennes et parasitaires* connurent à cette époque une vogue considérable, et d'ailleurs nombreux sont encore ceux qui croient à une origine exogène des tumeurs.

Pourtant l'accord est à peu près fait pour dénier toute valeur aux bactéries, champignons, spirochètes et protozoaires de toutes sortes qui ont été trouvés et décrits comme responsables des néoplasies malignes. La seule hypothèse à retenir et à discuter aujourd'hui est celle d'un *virus causal invisible*, du type *cytotrope*, hypothèse formulée dès 1907 par BORREL, et qui semble avoir trouvé un point d'appui sérieux dans certaines découvertes ultérieures dues à PEYTON ROUS (1913).

L'argument essentiel présenté par BORREL est tiré de la ressemblance frappante qui existe entre le cancer et les maladies à virus cytotrope connues. Il est en effet tout à fait remarquable de constater que les affections à virus filtrants, telles que la variole, la vaccine, la clavelée, intéressent pour ainsi dire exclusivement l'ectoderme et provoquent des proliférations épithéliales susceptibles parfois de revêtir un aspect adénomateux. Le fait est particulièrement net dans les lésions claveleuses du mouton et dans l'épithélioma contagiosum des oiseaux. BORREL en arrive ainsi à supposer que la prolifération cellulaire du cancer peut relever d'un virus analogue à celui qui engendre toutes ces « épithélioses » aigües.

Cette dernière conception paraît avoir reçu confirmation dans la découverte de P. Rous relative au mode de transmission du cancer des oiseaux. On sait en effet que l'injection sous-cutanée d'un filtrat provenant d'un *sarcome de la poule* détermine chez un animal de la même espèce, ainsi inoculé, l'apparition d'une tumeur absolument identique à la néoplasie originelle, et présentant les mêmes caractères de malignité. L'explication la plus plausible de ce phénomène consiste à incriminer l'action d'un virus cytotrope intervenant, non plus sur l'épithélium, mais sur les cellules du mésoderme.

Un autre argument en faveur de cette même théorie infectieuse peut être fourni par l'étude de certaines productions épithéliales du type des papillomes bénins, couramment appelés « verrues ». Il semble actuellement bien prouvé que ces lésions reconnaissent pour cause un virus ultra-microscopique. Or la barrière qui sépare de tels processus des néoplasies malignes n'est pas infranchissable. C'est ainsi que l'on observe parfois la transformation de ces papillomes en cancers. FIBIGER, par l'ingestion de blattes spiroptéïphores, a pu obtenir chez le rat aussi bien des papillomes que des épithéliomas. ROUSSY, par l'emploi du goudron, a pu déterminer de même tantôt l'une, tantôt l'autre de ces lésions. Rien ne s'oppose donc à ce que l'on admette une parenté étroite entre l'agent inconnu du cancer et celui déjà identifié de ces papillomes cutanés.

Evidemment la théorie infectieuse a soulevé bien des objections. Mais en réalité, ne sont en contradiction avec elle, ni l'impossibilité habituelle des inoculations (les virus cytotropes exigeant la plupart du temps une introduction strictement intra-cellulaire toujours très difficile à réaliser expérimentalement), ni même la reproduction possible du cancer au moyen des procédés physiques ou chimiques, ceux-ci pouvant bien n'intervenir qu'à la manière de « causes secondées », fragilisant les tissus, et les rendant particulièrement sensibles à l'agression des agents cancérigènes (PHILIBERT).

En définitive, *la théorie infectieuse et cytotrope des néoplasmes* a pour elle la nature infectieuse bien établie du sarcome de PEYTON ROUS et l'origine cytotrope de certaines lésions prolifératives cancérisables comme les papillomes. Mais en réalité cette conception n'a pas encore reçu de confirmation directe, elle ne repose que sur l'observation de quelques faits isolés dont il serait imprudent de vouloir

généraliser la portée; aussi convient-il pour le moment de ne l'accepter comme possible que sous les plus expresses réserves.

*
**

En face de la théorie infectieuse se dresse toute la série des *théories dites cellulaires* qui cherchent à expliquer le cancer à partir de *facteurs endogènes*, la cellule amorçant par elle-même sa cancérisation en dehors de toute intervention d'éléments extérieurs.

C'est ainsi qu'on a invoqué successivement la persistance chez l'adulte d'inclusions embryonnaires susceptibles de présenter des réveils évolutifs désordonnés (COHNHEIM), une rupture de l'équilibre qui règle normalement l'antagonisme du tissu conjonctif et du tissu épithélial (THIERSCH et WALDEYER), l'isolement fortuit d'une cellule qui échapperait soudain à l'action régulatrice et frénatrice des éléments voisins (RIBBERT), une sorte de conjugaison caryogamique entre les cellules, analogue à la fécondation des infusoires (HALLION), etc.

Toutes ces tentatives d'explication, déjà anciennes, n'ont plus maintenant qu'un intérêt historique; issues de données purement spéculatives, elles retiennent l'attention du philosophe bien plus que celle de l'expérimentateur. L'une d'elles cependant paraît digne d'être examinée de plus près.

Elle est due à MENETRIER lequel, reprenant une idée de WIRCHOW, proposa en 1899 sa théorie de la « *sélection cellulaire pathologique* ». Selon lui, une irritation locale répétée, insistante, pourrait provoquer au niveau de certaines cellules ayant échappé à la destruction, un état spécial caractérisé par des propriétés végétatives intenses mais anarchiques, qui leur font rapidement prendre le pas sur les cellules voisines. Il en résulterait la formation d'une *race cellu-*

laire nouvelle, aux attributs nettement pathologiques et génératrice du néoplasme.

On voit que cette interprétation a le grand mérite de se trouver en accord avec certains faits d'observation, tels que l'apparition de cancers à la suite d'irritations d'ordre traumatique, biologique, physique ou chimique. En outre, elle commence à faire pressentir le rôle possible du « *terrain* » dans le développement des néoplasies. Elle marque donc déjà un progrès réel sur les conceptions précédentes et ouvre la voie aux théories modernes, lesquelles s'efforcent de demeurer le plus possible au contact des données positives de la science et de l'expérimentation.

Parmi ces théories, il faut mentionner celle qui a été exposée il y a quelques années par WARBURG. Elle est originale et repose sur une notion chimique bien établie, à savoir l'existence de troubles de la glycolyse chez les cancéreux.

On sait en effet que la cellule vivante peut assurer le métabolisme des hydrates de carbone par l'intermédiaire de deux mécanismes fondamentaux: l'un normal et parfait qui est celui de l'oxydation, l'autre imparfait qui est celui de la fermentation. Le choix entre les deux modes dépend à tout moment de la quantité d'oxygène disponible: si celle-ci est suffisante, c'est le mécanisme normal qui joue, sinon c'est au processus de fermentation qu'il est fait appel. Or, chacune de ces deux réactions essentielles semble dévolue à des groupements cellulaires en quelque sorte spécialisés. Admettons que les conditions de vie deviennent telles que l'organisme se trouve dans l'obligation de fonctionner en anaérobiose, il en résultera une prédominance du groupe cellulaire intéressé pouvant aller jusqu'à son évolution cancéreuse. Ainsi donc le cancer serait dû à une carence des tissus en oxygène.

Tout aussi séduisante d'aspect, mais très digérente dans

son principe, est la théorie des « *mutations de gènes* » entrevue par BOVERI (1914), puis développée ultérieurement par plusieurs auteurs (et notamment par LOCKART-MUMMERY) (1932). Elle fait intervenir essentiellement les facteurs d'hérédité et de terrain dans l'incidence des tumeurs.

Depuis quelques années, en effet, il semble établi que les propriétés héréditaires de chaque cellule sont déterminées par de petits corpuscules appelés « gènes » contenus dans les chromosomes. Tous les caractères d'un individu, même les plus insignifiants en apparence, sont dominés par ces éléments unitaires présents dans le noyau, et ceci aussi bien pour les cellules somatiques que pour les cellules reproductrices. Supposons qu'une modification — *on dit une mutation* — survienne au niveau de certains gènes chargés plus spécialement de commander à la division cellulaire, qu'il s'ensuive en un certain point de l'organisme une accélération marquée des phénomènes de mitose, et du même coup on assistera à la formation locale d'une tumeur.

Quant aux influences susceptibles d'entraîner de tels changements, elles semblent pouvoir être d'ordres très divers : action du soleil, des rayons X, de substances chimiques telles que les hydrocarbures, ou encore instabilité spéciale du milieu intérieur avec tendance congénitale ou acquise à des variations apparemment spontanées.

Telles sont les principales théories émises pour expliquer la genèse du cancer. Bien d'autres interprétations ont été proposées par ailleurs qui incriminent tour à tour un déséquilibre alimentaire, des phénomènes d'avitaminose, un trouble de la perméabilité cellulaire (KOPACZEWSKI), voire même des perturbations endocriniennes (FICHERA) associées ou non à une dystonie neuro-végétative. En réalité, lorsqu'on examine de près toutes ces hypothèses, on s'aperçoit qu'aucune d'elles ne satisfait entièrement l'esprit, soit

qu'elle manque d'une base objective suffisante, soit qu'elle s'expose visiblement à prendre l'effet pour la cause, comme dans la conception de WARBURG, soit enfin qu'elle recule les frontières de la discussion sans lui apporter de solution définitive, comme c'est le cas de la doctrine génétique. En conséquence, il faut bien avouer *qu'à l'heure actuelle le problème pathogénique du cancer demeure entier*, malgré toute l'ingéniosité qui a été déployée pour le résoudre. Tout au plus peut-on arriver à cette conclusion provisoire que le cancer n'est pas « un », qu'il présente au contraire des formes multiples dont chacune comporte peut-être son explication propre, et qu'à cet égard il convient sans doute de séparer les épithéliomas des sarcomes, ces derniers paraissant se rapprocher par bien des côtés des réactions inflammatoires (note 1).

Si nous avons insisté quelque peu sur les principales théories explicatives des néoplasmes et notamment sur les théories cellulaires, malgré les obscurités et les incertitudes qu'elles présentent, c'est qu'elles apportent tout de même dans le domaine qui nous intéresse de la chimie biologique des données infiniment précieuses.

Elles font ressortir avant tout l'importance dans la genèse des tumeurs des facteurs dits extrinsèques, au nombre desquels se trouvent des *facteurs chimiques*. Nul ne songerait actuellement à contester le rôle cancérigène de certaines substances et en particulier des hydrocarbures à structure phénanthrénique. Or l'on est en droit de se demander si, en dehors des produits actifs apportés de l'extérieur par les mains mêmes de l'expérimentateur, il n'y en aurait pas

NOTE 1. — Le sarcome est donc un objet d'étude sujet à caution dans les recherches touchant au problème pathogénique du cancer.

d'autres, *d'origine intrinsèque* cette fois, résultant des différents métabolismes de l'organisme, et susceptibles d'intervenir eux aussi sur les phénomènes de multiplication cellulaire. Et à ce propos, il est intéressant de signaler que ce même squelette cyclique du type phénanthène, dont il vient d'être fait mention, entre dans la constitution de certains principes rencontrés normalement dans les humeurs, tels que les hormones sexuelles, le cholestérol et les sels biliaires, dont l'effet nocif pourrait ainsi se manifester occasionnellement sous l'influence de certains facteurs (note 2). *L'intoxication chimique* déclenchée de la sorte entraînerait dès lors la formation, à partir d'un tissu normal, d'un nouveau type tissulaire ayant un métabolisme particulier, par un processus que certains voudraient analogue à celui de la parthénogenèse expérimentale (LOEB et DELAGE).

Et ceci nous amène à soulever incidemment le grave problème du *terrain pré-cancéreux*, lequel pour bien des auteurs serait défini par tout un ensemble de constantes biochimiques propres. « Le cancer, dit Bang, est toujours constitué biologiquement avant de l'être histologiquement. » Et J. THOMAS ajoute dans le même sens: « Ce que nous désignons actuellement sous le nom de cancer est une maladie générale, dont la tumeur n'est que l'expression locale. » Ainsi donc la cancérisation ne serait possible que grâce à une prédisposition spéciale de l'organisme, liée elle-même à des modifications profondes et spécifiques du milieu intérieur et des tissus, et ceci explique probablement l'échec des tentatives de greffes d'une espèce animale à une autre, ou même entre individus d'espèce identique. Pous-

NOTE 2. — Les toxines secrétées par les virus n'agiraient-elles pas elles-mêmes grâce à leurs propriétés chimiques ou physico-chimiques?

sant encore plus loin dans la voie des déductions, peut-être faut-il voir également dans cette intervention du « sol » la cause des mutations de gènes auxquelles nous faisons allusion il y a un instant. Quoiqu'il en soit, malgré toutes les recherches faites dans ce domaine, la question du terrain est encore à l'étude, et il serait tout à fait prématuré d'émettre à son sujet un avis formel.

Si maintenant, examinant le débat sous un autre angle, nous étudions, non plus les conditions qui favorisent l'éclosion du cancer, mais les conséquences sur l'organisme du développement tumoral, nous nous apercevons que celui-ci entraîne nécessairement des modifications importantes dans la composition des humeurs et des tissus, modifications qui peuvent être décelées par l'analyse chimique. Ainsi donc se trouve créé *en retour* un *équilibre nouveau*, aux incidences multiples, qui affecte simultanément tous les constituants cellulaires aussi bien organiques que minéraux, et dont certains aspects seront envisagés au cours de ce travail.

En fin de compte, et quelle que soit l'opinion que l'on peut avoir sur la pathogénie du cancer, il ressort de l'ensemble des données précédentes que le *problème des tumeurs tend de plus en plus à devenir un problème d'ordre biochimique*. Et cette notion explique le zèle qu'ont mis les chimistes à préciser le sens des variations que subissent les différents milieux de l'économie du fait de l'évolution cancéreuse, que ces variations soient la cause, l'effet ou de simples témoins de l'état pathologique en cours. Evidemment, ici comme ailleurs, tous les efforts n'ont pas été couronnés de succès et les conclusions auxquelles les chercheurs ont abouti sont d'un intérêt très inégal. Beaucoup n'ont que peu de valeur, certaines même sont trompeuses et l'on ne peut manquer d'être surpris à la lecture des pro-

tocoles d'expériences de constater tant de divergences, jusque dans l'ordre de grandeur des chiffres publiés. Dans ces conditions, il est facile d'imaginer les difficultés auxquelles peut se heurter toute tentative de synthèse. Ces difficultés vont apparaître au cours des paragraphes suivants où nous allons passer successivement en revue, avant d'aborder l'exposé de nos recherches personnelles, toute la série des travaux antérieurs consacrés plus spécialement à la *chimie des protides*.

LES TROUBLES DU METABOLISME DES PROTIDES AU COURS DU DEVELOPPEMENT TUMORAL

ETAT ACTUEL DE LA QUESTION

Si dans le domaine de la *Chimie des Protides* les travaux publiés sont extrêmement abondants, par contre la plupart d'entre eux n'envisagent qu'une portion très restreinte du problème, touchant tantôt à certains détails du métabolisme intratumoral lui-même, tantôt à quelque point particulier relatif aux réactions humorales qui accompagnent l'évolution néoplasique. Les résultats auxquels sont ainsi parvenus les différents auteurs étant par ailleurs assez souvent contradictoires, il s'ensuit un véritable chaos au milieu duquel il est parfois difficile de démêler un fil conducteur. Nous allons toutefois essayer de mettre un peu d'ordre dans cet ensemble, en sériant les questions et en envisageant tour à tour les faits essentiels qui ont été débattus.

La grande majorité des expériences entreprises jusqu'à présent ayant porté sur l'état des humeurs, nous allons commencer par l'étude des variations accusées par les divers constituants protidiques du sang lors du développement tumoral.

**

Parmi les problèmes qui ont été les plus controversés au cours de ces dernières années, il convient de signaler ceux

qui se rapportent aux *modifications quantitatives et qualitatives subies par les albumines sériques au cours du cancer*. Sur ce terrain on peut dire que les discussions se sont trouvées centrées autour des intéressantes recherches effectuées dès 1920 par Loeper et ses collaborateurs.

Etudiant un lot de douze tumeurs appartenant à des organes divers, LOEPER, FORESTIER et TONNET (1) ont en effet constaté dans chacun des cas envisagés une *hyperalbuminose notable*, de l'ordre de 80,90 et même 110 grammes pour 1000, qu'ils ont pu qualifier à juste titre de « paradoxale » puisqu'elle contrastait avec la cachexie concomitante, l'insuffisance d'alimentation et parfois même l'existence d'œdèmes.

En réalité c'est la globuline qui paraît faire tous les frais de cette albuminose excessive, son taux pouvant atteindre 80 % des protéines totales, alors que la serum-albumine conserve une valeur normale ou même abaissée. Il en résulte une *diminution du quotient albumineux* allant la plupart du temps jusqu'à son inversion.

Quant à l'origine de cette hyperglobulinémie, elle semble provenir pour ces mêmes auteurs de la néoformation elle-même, laquelle déverserait en se désagrégeant ses albumines de constitution dans le courant circulatoire. Cette interprétation s'appuie sur des arguments en apparence très démonstratifs. C'est ainsi que l'on observerait la disparition constante de l'hyperalbuminose sanguine après ablation chirurgicale de la tumeur, et au contraire une augmentation nette de cette perturbation humorale à la suite d'irradiations intenses et prolongées portant sur des masses néoplasiques volumineuses. Par ailleurs, il serait possible de

N. B. — Le chiffre indiqué après les noms des auteurs correspond au numéro d'ordre de la bibliographie.

déclencher chez l'animal des réactions anaphylactiques violentes en lui injectant successivement des albumines sériques et des albumines tumorales prélevées chez le même malade.

En fait, les résultats publiés par LOEPER et ses élèves n'ont pas été sans soulever de nombreuses objections. Tandis que DELLA ROSA (2) insiste sur l'inconstance de l'hyperalbuminose chez les cancéreux, THEIS (3) puis SANNIÉ et PEYRE (4) nient l'existence de toute modification dans le taux des protéines sanguines chez ces sujets, et CODOUNIS (5) va même jusqu'à prétendre que c'est l'hypoprotidémie qui est de règle au cours des néoplasies.

La même incertitude règne en ce qui concerne les variations du quotient albumineux dans le sang. Si l'on met à part l'opinion de REDING (6) qui vient confirmer exactement celle de LOEPER, la plupart des travaux publiés depuis lors apportent aux conclusions de ce dernier auteur d'importantes réserves. En particulier, pour FILINSKY (7), GUSSIO (8) et CODOUNIS (5), l'hyperglobulinémie qui se trouve à la base du déséquilibre observé ne relèverait pas exclusivement du développement tumoral lui-même, mais dépendrait pour une bonne part de toute une série de facteurs contingents sur lesquels nous aurons l'occasion de revenir. Bien plus, KOTZAREFF et LEUBA (9) aboutissent à des constatations diamétralement opposées à celles qui tendent alors à s'accréditer, puisqu'ils enregistrent pour leur part une augmentation du quotient albumineux, liée à une hypoglobulinémie et qui leur paraît proportionnelle au degré de malignité de la tumeur.

*
**

Nous ne nous attarderons pas sur les variations du *fibrinogène* puisqu'à la suite des travaux de CODOUNIS (5), LOICQ (10) et REDING (6) l'accord semble s'être réalisé pour

admettre son augmentation au cours des néoplasies, et nous passerons tout de suite à l'étude du *Comportement de « l'azote total non protéique »* dans le sang des cancéreux. La discussion revêt ici des aspects multiples puisque cette rubrique englobe toute une série de substances très diverses, issues des métabolismes cellulaires, et parmi lesquelles l'urée, l'acide urique, les polypeptides et les acides aminés méritent de retenir plus particulièrement l'attention.

Si l'on envisage tout d'abord les *modifications d'ensemble* présentées par toutes ces substances dans le milieu humoral, on constate qu'ici encore les avis sont très partagés.

C'est ainsi que selon THEIS et STONE (11) il existerait chez les cancéreux une légère élévation du taux de l'azote non protéique et de l'azote uréique dans le sang, la localisation de la tumeur paraissant d'ailleurs intervenir dans l'établissement de ces valeurs. Semblablement il y aurait chez ces sujets une certaine augmentation de l'azote des acides aminés. Quant à l'acide urique, si l'on excepte les cas de mélanosarcomes et ceux où il existe des complications rénales, sa teneur demeure sensiblement normale.

De leur côté, KILLIAN et KAST (12) ont trouvé, chez la plupart des cancéreux examinés par eux avant le stade de cachexie terminale, une *rétenction azotée* qui, attribuée déjà par THEIS et STONE aux besoins de la tumeur pour son développement, leur semble plutôt dépendre d'une altération plus ou moins grave des fonctions rénales et fait défaut au cours des néoformations bénignes. A l'appui de leur thèse, ces auteurs font valoir que l'ordre dans lequel cette rétenction s'installe est le même que pour la néphrite interstitielle, puisqu'elle affecte successivement l'acide urique, l'urée et la créatinine.

Tandis que CODOUNIS (5) puis REDING (6) confirment ultérieurement cette augmentation globale du taux de l'azote

non protéique dans le sérum des individus atteints de néoplasmes, d'autres auteurs tels que LOEPER, TONNET et THINJ (13) discutent sur la nature des éléments intéressés par cette variation. Pour eux, elle porterait essentiellement sur la fraction désignée sous le nom d' « azote résiduel », et plus spécialement encore sur l'azote des amino-acides. Cette opinion se trouve d'ailleurs reprise par la suite et développée par LOISELEUR (14), qui admet même la possibilité dans certains cas d'une hypouréoémie compensatrice.

Toutefois ROC et DYER (15) poursuivant des recherches expérimentales sur les tumeurs de PEYTON ROUS obtiennent pour l'azote non protéique, la créatinine et l'acide urique des chiffres identiques chez les poules témoins et chez les animaux sarcomateux.

Au même moment, CHATAIN (16) arrive à des conclusions franchement opposées à celles qui viennent d'être exposées. Pour lui, il y aurait au cours des tumeurs malignes, quels que soient leur variété et leur degré de développement, un syndrome hypouricémique associé le plus souvent à une hypoazotémie ou à une azotémie faible, le tout témoignant d'une réduction dans le métabolisme des albuminoïdes.

Toutes ces incertitudes trouvent d'ailleurs leur répercussion lorsqu'on étudie l'élimination urinaire de l'urée et des divers constituants de l'azote résiduel. A ce propos, nous nous bornerons à signaler les travaux publiés par MELLANBY (17), puis par HOOGENHUYZE et VERPLOEGH (18) et surtout les très intéressantes recherches expérimentales effectuées par KIMURA (19) sur l'urine des rats cancéreux. Chez ces animaux l'auteur a constaté en effet, à mesure que le néoplasme se développe, une augmentation en valeur absolue des azotes total, ammoniacal et uréique, contrastant avec un taux normal de l'azote de l'acide urique et des bases puriques. Ces données paraissent bien indiquer un accrois-

sement des phénomènes de désintégration tissulaire avec oxydations incomplètes. Par ailleurs, une diminution marquée de l'azote des acides aminés confirmerait en même temps la réalité d'un processus de néoconstruction au niveau du cancer.

**

On sait que la *polypeptidémie* s'intègre dans le cadre de l'azote résiduel du sang dont elle est appelée par suite à partager toutes les fluctuations. On ne s'étonnera donc pas de retrouver en ce qui la concerne les mêmes discussions que pour les autres constituants de l'azote non protéique du plasma.

Dès 1922, RAMOND et ZIZINE (20), étudiant les réactions d'autolyse chez les cancéreux, furent amenés à considérer, comme étant la conséquence de ces phénomènes, l'accroissement dans le sang du taux de l'azote total, de l'azote uréique et de l'azote résiduel. Ces faits, il est vrai, étaient déjà bien connus à l'époque. Mais ce qui les frappa surtout — et leur parut nouveau — ce fut l'*élévation élective de la teneur en polypeptides des humeurs*. En effet, il leur apparut que l'augmentation portait surtout sur ces derniers corps dont le poids moléculaire est élevé, alors qu'elle ne touchait que faiblement les substances provenant d'une dégradation plus avancée des matières albuminoïdes telles que l'urée.

En 1926, CRISTOL et PUECH (21) constatèrent également une hyperpolypeptidémie au cours des néoplasies, mais c'était là pour eux un fait très inconstant, ne s'observant qu'en cas de généralisation et de cachexie, comme témoin de la désintégration des albumines tumorales.

Plus récemment, en 1934, DUVAL, ROUX et GOIFFON (22), employant la technique de ce dernier, notèrent chez les malades atteints d'affections néoplasiques, un accroissement d'autant plus marqué du taux des polypeptides san-

guins que l'on se rapprochait davantage de la période cachectique de la maladie. En outre, ces auteurs observèrent dans certains cas une disparition immédiate de l'hyperpolypeptidémie après ablation chirurgicale de grosses tumeurs du sein.

Ces conclusions furent par la suite très fortement critiquées et occasionnèrent même d'assez vives controverses.

C'est ainsi que MASSIMO SALMON en 1935 (23), étudiant trois cancéreux, indique ne pas avoir constaté l'hyperpolypeptidémie signalée. La même année, LOICQ (24), utilisant la méthode du double azote, observe un « *index polypeptidémique* » élevé chez les cobayes porteurs de tumeurs greffées, *mais inchangé chez l'homme cancéreux*, cette différence de comportement lui paraissant imputable au volume considérable que peuvent atteindre les masses tumorales chez l'animal (jusqu'au cinquième du poids du corps). Ses conclusions se trouvent donc également en désaccord avec celles de DUVAL.

Publiant alors une note rectificative (5), DUVAL, ROUX et GOIFFON admettent le bien-fondé des critiques qui leur sont adressées et, à la suite de nouvelles expériences, reconnaissent l'inconstance de l'hyperpolypeptidémie au cours des affections néoplasiques.

Mais la discussion, un moment apaisée, rebondit bientôt lorsque REDING, après une double série de recherches publiées en 1936 (6) et en 1938 (26), insiste à nouveau sur la fréquence et l'importance de l'hyperpolypeptidémie chez les cancéreux, laquelle dépendrait selon lui, non seulement de l'existence d'un foyer intratumoral d'histolyse (source endogène), mais encore d'une insuffisance surajoutée de la fonction proteopexique du foie (source exogène).

Entre temps cependant, LIÉGEOIS et TERACHE (27), opérant sur treize chiens atteints de tumeurs diverses, observent

des taux polypeptidiques normaux, sauf dans deux cas se rapportant à de très gros adenocarcinomes des mamelles.

Enfin BULLIARD et GRUNDLAND (28), injectant des hydrolysats polypeptidiques à des rats porteurs de cancers expérimentaux, provoquent chez ceux-ci une hyperpolypeptidémie bientôt suivie d'une augmentation sensible dans la dimension des tumeurs. Ils en concluent que l'hyperpolypeptidémie joue un rôle actif dans la croissance des néoplasmes et renversent ainsi les données du problème telles qu'elles s'étaient jusqu'alors posées.

A l'issue de cet exposé où voisinent les notions les plus contradictoires, il nous est permis d'admettre que, jusqu'à nouvel ordre, *l'hyperpolypeptidémie des cancéreux n'est pas un fait prouvé*, sauf toutefois lorsqu'il s'agit de volumineuses tumeurs, aussi bien expérimentales que spontanées, déterminant de phénomènes locaux importants de lyse tissulaire.

Nous ne pouvons clore ce paragraphe consacré aux polypeptides sans faire allusion aux variations présentées par le *glutathion dans le sang* des malades porteurs de néoformations tumorales. Le rôle essentiel joué par ce facteur dans les phénomènes d'oxydo-réduction cellulaire explique tout l'intérêt qu'il a pu susciter au cours des recherches sur le cancer.

Etudiant le glutathion réduit dans les humeurs d'un certain nombre de cancéreux, CHATAIN (16) considère que le taux atteint par ce corps oscille habituellement dans les limites normales qui sont comprises pour lui entre 250 et 400 mmgr. pour 1.000. Par contre, TRUHAUT et MINOPOULOS (29) estiment qu'il existe une diminution de la teneur du sang en ce tripeptide au cours des néoplasies, confirmant ainsi une opinion déjà émise par HIRSCH (30).

Quant à SCHOONOVER (31), il s'est surtout préoccupé de

comparer les modifications subies par le glutathion, tant dans sa forme oxydée que dans sa forme réduite, à l'intérieur des hématies et dans le plasma des sujets cancéreux.

Enfin, tout récemment, L. BINET (32) a noté dans le cancer une élévation sensible du glutathion par rapport au nombre des globules.

Pour le moment, nous nous bornons à signaler ces quelques références, nous réservant de revenir ultérieurement sur certains autres aspects présentés par le métabolisme de ce peptide soufré au cours du développement tumoral.

*
**

Nous venons d'assister à l'évolution dans l'organisme du cancéreux des produits de déchets qui, tels que l'urée et l'acide urique, proviennent de la dégradation des matières protéiques. Nous avons vu également ce que deviennent les éléments du métabolisme intermédiaire et notamment les polypeptides. Il nous reste maintenant à envisager plus spécialement le *comportement dans le sang des amino-acides*, lesquels représentent à la fois le terme ultime du catabolisme et le stade initial de l'anabolisme des substances albuminoïdes.

Ces substances entrant dans la constitution de l'« azote non protéique » et s'intégrant plus particulièrement dans le cadre de l'« azote résiduel », nous ne nous étonnerons pas de retrouver ici quelques-unes des indications bibliographiques déjà évoquées.

C'est ainsi que THEIS et STONE signalent comme nous l'avons déjà vu, une légère augmentation de l'aminoacidémie au cours des néoplasies, et que LOEPER, TONNET et THINJ (13) notent l'année suivante dans le sang des cancéreux un accroissement de l'azote résiduel, qu'ils rapportent

d'ailleurs pour une large part à l'élévation du taux des acides aminés.

En 1923, RAMOND, PARTURIER et ZIZINE (33) aboutissent aux mêmes conclusions que les auteurs précédents et trouvent des chiffres d'autant plus élevés que les tumeurs sont plus volumineuses.

Plus tard, REDING (6) publie dans le même sens des résultats fort suggestifs. Etudiant les amino-acides du sang par la méthode de FOLIN, il trouve, chez 11 sujets sains d'une part et chez vingt et un cancéreux d'autre part, des valeurs qui, exprimées en milligrammes d'azote pour 100, oscillent autour des moyennes respectives de 6,32 pour les premiers et de 8,47 pour les seconds. Ces résultats sont d'ailleurs en conformité avec ceux déjà obtenus peu auparavant, au moyen de techniques différentes, par MALAWAN (34) et par GOLDFEDER (35) chez des malades porteurs de néoplasmes.

Il est probable que les modifications humorales qui viennent d'être décrites présentent un retentissement sur l'excrétion urinaire de l'azote aminé. La plupart des auteurs (CRISTOL et PUECH, FIESSINGER, etc.) admettent en effet que cette excrétion augmente au cours du cancer. Toutefois LABBÉ et MOUZAFFER (36) estiment que le fait n'est vraiment manifeste que dans les néoplasmes du foie s'accompagnant de signes nets d'insuffisance hépatique. Ils en concluent que ce n'est pas tant le cancer par lui-même qui engendre les troubles du métabolisme azoté que l'atteinte hépatique surajoutée, que celle-ci soit anatomique (métastases) ou purement fonctionnelle. Ainsi l'amino-acidurie conserverait toute sa valeur comme test d'insuffisance du foie.

De tout cet ensemble de faits relatifs à l'état des humeurs au cours des processus tumoraux, il est évidemment diffi-

cile de tirer une conclusion générale, d'autant plus que les résultats auxquels sont parvenus les différents auteurs sont très souvent contradictoires.

En réalité, de telles divergences ne doivent pas nous étonner outre mesure. Le sang et les urines constituent des « milieux témoins » sur lesquels se répercutent obligatoirement toutes les vicissitudes des métabolismes cellulaires; il s'ensuit des variations incessantes de leur composition qui, déjà sensibles à l'état normal, se trouvent encore accrues au cours des états pathologiques tels que le cancer.

Dans ce dernier cas, en effet, l'organisme héberge un *important foyer d'histolyse* qui lance continuellement dans la circulation les produits de désintégration tissulaire. Et ceci est tellement vrai que l'institution d'un traitement radiothérapique accentue instantanément les modifications sanguines observées, en proportion de la radiosensibilité de la tumeur (Loiseleur).

A ce facteur essentiel viennent s'en ajouter bien d'autres, parmi lesquels il convient de citer la localisation même du néoprocessus (THEIS et STONE, ACHARD [37]), le degré atteint par la cachexie (GUSSIO), l'hypoalimentation du sujet (SURMONT [38]), voire la réduction des phénomènes d'oxydation (SAXL [39], KIMURA, CHATAIN), sans oublier surtout une *insuffisance éventuelle des fonctions hépatiques* (FILINSKY, REDING) et enfin *l'état de l'émonctoire rénal* (KILLIAN et KAST).

Ainsi donc, l'explication des variations du métabolisme azoté dans les humeurs des cancéreux ne paraît pas devoir être recherchée, comme on le fait trop souvent, dans une cause déterminée, mais bien plutôt *dans le jeu réciproque de toute une série de facteurs* reliés sans doute entre eux par des rapports définis (notion de « l'indice d'histolyse » de Loiseleur) [40]. C'est en quelque sorte de la somme

algébrique de tous ces éléments que dépend en fin de compte, et dans chaque cas particulier, le taux des différents composés azotés que nous venons d'envisager.

En définitive, tout ce que l'on peut affirmer c'est qu'il existe chez des malades porteurs de néoformations tumorales une *certaine instabilité dans l'équilibre protéique des humeurs*, notion qui a servi de point de départ à des tentatives multiples en vue d'établir un *séro-diagnostic du cancer*. C'est ainsi que diverses méthodes ont été proposées qui ont pour base les variations subies par le complexe colloïdal du sérum et notamment par les éléments du quotient albumineux (réactions de Botelho, de Fischer, de Kahn, de Vernes, etc). En pratique toutes ces réactions se sont avérées par trop infidèles pour qu'on puisse leur accorder quelque crédit. Fondées sur des données essentiellement inconstantes, voire même hypothétiques, elles ne pouvaient offrir de garanties suffisantes de spécificité et leur intérêt est d'ordre purement documentaire (note 1).

Devant toutes les difficultés qui se présentent ainsi lorsqu'il s'agit d'établir le bilan humoral des néoplasies, il était tout naturel que l'on songeât à s'adresser à la tumeur elle-même, en vue de préciser *les aspects proprement tissulaires* de son métabolisme azoté.

Sur ce terrain, nous allons tout d'abord rappeler très brièvement les principales recherches relatives à la répartition des nucléo-protéides et du glutathion au sein des néoplasies, nous réservant d'insister beaucoup plus longuement

NOTE 1. — Sur ce sujet on consultera avec fruit l'article de Lavedan (41) qui comporte une importante documentation sur les travaux parus avant 1931. Pour les publications récentes, on trouvera également une bibliographie détaillée dans les fichiers de « l'Encyclopédie médico-chirurgicale » (tome réservé au cancer).

par la suite sur un sujet qui nous intéresse de plus près, et qui se rapporte aux *variations intratumorales des amino-acides*.

*
**

Des travaux, peu nombreux il est vrai, ont été entrepris dans le but de déterminer la teneur en *nucléo-protéides* des tumeurs.

Dès 1899, PETRY (42), analysant un cancer du sein, a noté une augmentation nette de ces composés azotés. Selon lui, dans la masse tumorale, plus de 50 p. 100 des matières albuminoïdes seraient représentés par des nucléo-protéides, alors que la proportion de ces derniers n'est que de 30 p. 100 dans un sein normal. Si l'on considère que les nucléo-protéides sont les constituants essentiels des noyaux cellulaires, cet accroissement de leur taux s'explique fort bien par la prolifération nucléaire intense qui caractérise les tissus néoplasiques. Toutefois, toujours d'après Pétry, les sarcomes s'écarteraient relativement de cette règle. Et le même auteur conclut que les tumeurs cancéreuses sont d'autant plus malignes qu'elles contiennent davantage de nucléo-protéides, ce qui s'accorde assez bien avec les résultats de l'examen histologique.

Ultérieurement, l'opinion formulée par Pétry a été confirmée par Beebe (43), puis par Rohdenburg et Bullock (44).

Au demeurant, il existerait pour certains auteurs un rapport entre la teneur en nucléo-protéides d'un tissu et sa tendance à l'évolution cancéreuse. GROBLY (45) a soutenu notamment qu'une augmentation anormale de ces protéides entraîne des altérations humorales, lesquelles prédisposent à leur tour à la prolifération néoplasique maligne. De même, pour DUSTIN (46), c'est l'incapacité dans laquelle se trouve l'organisme senescent de désintégrer les nucléo-protéides

qui continuent à lui parvenir qui permet d'expliquer l'apparition des tumeurs, celles-ci se développant à la faveur des troubles métaboliques que ce déséquilibre engendre. Enfin, pour Carini (47), l'injection répétée à des lapins de nucléoprotéides provenant d'un cancer humain déclencherait des réactions toxiques beaucoup plus sévères qu'avec les mêmes extraits émanant de tissus sains, et déterminerait par ailleurs, chez les animaux en expérience, l'apparition d'une cachexie en tous points comparable à la cachexie cancéreuse.

Il s'en faut de beaucoup toutefois pour que la thèse soutenue par PÉTRY — et avec lui par nombre d'auteurs — ait été généralement acceptée. C'est ainsi en particulier que YOSHIMOTO (48) nie formellement l'existence d'un rapport quelconque entre l'abondance des noyaux cellulaires et le taux des nucléoprotéides. Certains faits semblent d'ailleurs confirmer sa manière de voir.

On sait en effet que les bases puriques et l'acide urique constituent les termes essentiels du dédoublement des nucléoprotéides. Si ceux-ci représentaient véritablement la presque totalité des noyaux cellulaires, il faudrait s'attendre logiquement à trouver ces produits de desassimilation en plus grande quantité dans le tissu tumoral que dans le tissu sain.

Or, sur 6 cas de cancers divers enlevés chirurgicalement, SAÏKI (49) n'a pas décelé de bases puriques et se trouve ainsi amené, lui aussi, à rejeter la théorie qui considère le métabolisme purique comme le facteur principal de la désintégration des tumeurs.

Donc, ici encore, des recherches complémentaires s'imposent avant qu'il soit possible de formuler une conclusion valable.

★★

Au cours des études sur le Cancer, les recherches sur le *glutathion* ont porté, non seulement sur le milieu sanguin, mais encore sur le tissu tumoral lui-même.

C'est ainsi que LECLoux, VIVARIO et FIRKET (50) constatent que le sarcome transplantable de la souris renferme davantage de ce corps que les tissus normaux de même nature morphologique. Cette haute teneur ne serait pour eux nullement caractéristique des néoplasmes, puisque le foie, les organes embryonnaires et tous les tissus de croissance en comportent autant, sinon plus. Le même rapprochement avait d'ailleurs déjà été établi quelques années auparavant par VOETGLIN et THOMPSON (51 et 52) entre le tissu hépatique et les tumeurs expérimentales.

De leur côté, ESTRADÉ (53) puis HIRSCH (30) signalent une augmentation appréciable du taux du glutathion dans les tumeurs, s'effectuant aux dépens des éléments demeurés sains. Pour ce dernier auteur, la forte concentration ainsi atteinte par le tripeptide à l'intérieur des néoplasies pourrait même agir comme stimulant de la croissance anarchique des cellules, à la faveur des conditions spéciales d'oxydo-réduction réalisées localement.

Toutefois, pour séduisante qu'elle puisse paraître du point de vue dogmatique, l'opinion formulée par les précédents auteurs est loin d'avoir rallié tous les suffrages. D'autres recherches ont été entreprises, portant pour la plupart sur des tumeurs expérimentales, qui aboutissent à des conclusions tout à fait opposées.

Déjà en 1925, YAOÏ et NAKAHARA (54) ne décèlent le glutathion qu'en quantités négligeables dans les sarcomes de Rous, alors qu'ils le trouvent à des taux plus importants dans les tissus normaux et même dans d'autres néoformations malignes.

Plus tard, HEINLEW (55), utilisant la méthode de Tunnicliffe modifiée, observent dans quelques organes normaux (foie, rate, reins, poumons, etc.) des teneurs plus élevées en glutamyl-cystéinyl-glycine que dans le sarcome de Rous et l'adenocarcinome d'EHRlich de la souris, les différences étant d'ailleurs d'autant plus sensibles que la tumeur est plus avancée dans son évolution.

A. et M. GOERNER (56) constatent également un abaissement du taux de ce tripeptide dans les tumeurs et dans le tissu hépatique de rats greffés au moyen du carcinome de Flexner-Jobling. L'addition de cystéine au régime de ces animaux aurait d'ailleurs pour conséquence de rétablir rapidement un niveau plus élevé.

Enfin WOOWARD (57) signale que les tissus non cancérisés des rats porteurs de tumeurs expérimentales ont une teneur en glutathion et en acide ascorbique plus faible que les masses néoplasiques, exception faite cependant pour les zones nécrosées. Le traitement radiothérapique aurait pour effet d'abaisser le taux de ces deux éléments, surtout dans les formes radiosensibles.

Nous avons ainsi achevé l'exposé des résultats auxquels sont parvenus les différents chercheurs qui ont étudié la répartition du glutathion dans les humeurs et les tissus des malades atteints de néoplasmes. Sur ce terrain encore mal défriché, il serait sans doute prématuré de vouloir édifier quelque chose de stable avec les données dont on dispose. Toutefois, dans le cas même où l'accroissement du taux de ce corps se trouverait vérifié, deux hypothèses sont à retenir touchant à l'interprétation des phénomènes. D'une part il peut très bien s'agir d'une simple exagération des métabolismes cellulaires, d'essence banale et ne comportant aucun caractère spécifiquement cancéreux (LECLOUX, VIVARIO et FIRKET). D'autre part le fait peut également résulter

d'un véritable « *transfert* » du glutathion, à partir du sang et des organes sains, vers les tissus en voie de cancérisation (HIRSCH) ou déjà cancérisés (ESTRADE).

*
**

Il nous reste encore à envisager les VARIATIONS ACCUSÉES PAR LES ACIDES AMINÉS A L'INTÉRIEUR DES NÉOFORMATIONS TUMORALES.

Jusqu'ici aucun travail d'ensemble ne paraît avoir été entrepris sur ce sujet, essentiel en ce qui nous concerne. La plupart des recherches qui ont été effectuées sont en effet très fragmentaires et ne portent que sur tel ou tel monopeptide plus particulièrement choisi. Afin de mettre un peu d'ordre dans cette question, qui risquerait sans cela d'être un peu confuse, nous avons pensé qu'il y avait lieu d'examiner séparément les résultats se rapportant aux acides diaminés et aux acides monoaminés, d'autant plus que ces deux groupements présentent, aussi bien du point de vue chimique que physiologique, des caractéristiques spéciales.

a) *Acides diaminés.*

Chimiquement bien individualisés grâce à leurs six atomes de carbone et à leurs propriétés fortement basiques, les bases hexoniques ont en physiologie la réputation d'être des facteurs actifs de la croissance cellulaire. C'est à OSBORNE et MENDEL (58) que revient le mérite d'avoir les premiers attiré l'attention sur ces corps, à la suite de toute une série d'expériences, devenues bientôt classiques, sur les rats carencés. D'ailleurs, c'est à peu près au même moment que fut démontrée la teneur élevée en protamines — et par suite en diamino-acides — des spermatozoïdes,

des semences végétales et d'une manière générale de tous les tissus germinatifs. Plus tard, ROSE (59) est revenu sur ce sujet en lui apportant des précisions de la plus haute portée pratique. Nous n'insisterons pas pour l'instant sur toutes ces notions, nous réservant d'en développer les données essentielles au cours d'un chapitre ultérieur.

Mais, d'ores et déjà, il apparaît comme certain que la croissance d'une tumeur ne peut s'effectuer dans un organisme sans perturber son équilibre azoté, et sans nécessiter l'appoint d'amino-acides supplémentaires empruntés au milieu extérieur ou prélevés sur ses propres réserves. Qu'il y ait ainsi apport externe ou simple transfert, la teneur de la néoplasie en azote aminé doit s'en trouver à priori modifiée, et il est logique de supposer que ces variations doivent porter avant tout sur les *bases hexoniques*, étant donné le rôle joué par celles-ci dans tous les phénomènes de prolifération tissulaire.

Déjà, dès 1907, BERGELL (60), utilisant la méthode d'HAUSSEMAN pour la recherche des acides diaminés dans les tissus tumoraux, fut amené à conclure que ceux-ci sont plutôt en augmentation par rapport aux tissus sains.

En 1912, OSBORNE et MENDEL (61) confirment ces premiers résultats. Mais il faut attendre 1915 avec KOCHER (62) pour obtenir une étude précise et détaillée de la question.

Partant de cinq tumeurs malignes de nature différente, cet auteur leur applique la méthode de KOSSEL et KUTSCHER (63) modifiée par VAN SLYKE (64). Cette méthode consiste à hydrolyser complètement les protéines (préalablement extraites des néoplasmes par l'alcool puis desséchées) grâce à un séjour prolongé de trente-deux à trente-trois heures en présence de dix volumes de HCL à 20 p. 100. La lysine est ensuite isolée à l'état de picrate, l'arginine et l'histidine à l'état de picrolonate. A l'issue de ces opérations, les

valeurs des trois amino-acides sont déterminées en partant des sels et non de l'azote en solution. On trouvera dans le tableau ci-dessous, pour chacun de ces mono-peptides, les résultats obtenus exprimés en p. 100 de l'N total.

TABLEAU N° 1

Diagnostic	Azote des bases en p. 100 de l'N total			
	Arginine	Histidine	Lysine	N total de la base
1. — Carcinome du larynx	12.06	3.88	10.25	26.20
2. — Métastases hépatiques d'un carcinome gastrique	12.80	5.52	12.65	30.75
3. — Lymphosarcome ..	11.95	4.84	11.32	28.14
4. — Endothéliome	11.63	4.46	9.89	25.94
5. — Métastases hépatiques d'un carcinome primitif de l'iléon	13.65	5.58	12.06	31.32

L'interprétation de ces données analytiques se trouve grandement facilitée si l'on s'en réfère aux travaux publiés, sensiblement à la même époque, et après emploi des mêmes techniques, par WAKERMAN, relativement à la composition en bases hexoniques de quelques tissus normaux appartenant tant à l'homme qu'à des espèces animales variées.

Voici, toujours d'après KOCHER, *un bilan comparatif des moyennes* obtenues sur les tissus sains et tumoraux pour chacune des substances envisagées:

	Arginine %	Histidine %	Lysine %	N total de la base %
Tissus sains (foie, muscles, etc.) d'après WAKERMAN	6.07	1.78	5.68	13.52
Tissus tumoraux, d'après KOCHER	12.42	4.86	11.23	28.48

La confrontation de ces résultats montre qu'après hydrolyse le taux des divers acides diaminés est plus élevé dans les néoplasmes que dans les tissus normaux, *les différences observées allant largement du simple au double.*

Par ailleurs, il ressort d'autres expériences que nous ne pouvons décrire ici, que la comparaison avec toute une série de protéines isolées (gliadine, caséine, etc.) est également en faveur des tissus néoplasiques, exception faite toutefois pour les protamines et les histones.

Quant à savoir si un tel pourcentage élevé de bases hexoniques est une particularité propre aux tumeurs malignes, ou bien constitue un caractère commun à tous les tissus en état de croissance rapide, l'auteur estime qu'il serait prématuré de se prononcer sur un tel sujet.

Tels sont les résultats essentiels des expériences de KOCHER. Celles-ci sont pour nous du plus haut intérêt et constituent, à coup sûr, des bases solides pour toutes les recherches à venir. Néanmoins nous croyons qu'elles sont passibles de deux critiques. Tout d'abord elles ne portent que sur un nombre très restreint de cas. En second lieu et surtout, l'auteur fonde ses conclusions sur la comparaison entre des tumeurs et des tissus sains totalement étrangers les uns aux autres et sans aucun lien histologique. Rien de plus différent par exemple qu'un foie normal et une métastase quelconque développée au sein de son parenchyme.

Parallèlement aux travaux précédents, SWEET (65) et Rous (66), étudiant l'influence du régime sur l'évolution du cancer, ont constaté que lorsqu'on donne à des rats blancs porteurs de carcinomes une alimentation carencée en bases hexoniques, la tendance de ces tumeurs à produire des métastases se trouve diminuée. Dans quelques-uns de leurs cas cependant, les néoplasmes augmentèrent assez vite de volume, malgré un amaigrissement important de

l'animal. Ce fait indiquerait, pour KOCHER, que les tissus subissent alors une sorte de désintégration susceptible de libérer les substances nécessaires à l'accroissement rapide des cellules tumorales.

Le recherches de KOCHER et de ses devanciers ont reçu une confirmation récente dans les travaux d'A. ROBIN (67). D'après ce biologiste, les caractéristiques essentielles des protéines tumorales seraient d'être pauvres en soufre, et par contre très riches en acides diaminés. Si l'on considère que ceux-ci constituent, avec les vitamines, les facteurs essentiels de croissance, on s'explique facilement le développement rapide et la multiplication quasi indéfinie de la cellule cancéreuse.

b) *Acides monoaminés.*

C'est sur ce point que les résultats sont les plus clairs. Ceci tient sans doute en grande partie aux imperfections fréquentes, voire même aux insuffisances de leurs techniques d'analyse.

En 1905, BERGELL et DORPINGHAUS (68) constatent, après dislocation hydrolytique de trois néoplasmes, des teneurs faibles en leucine et en tyrosine — et par contre élevées en acides diaminés — par comparaison avec les tissus normaux. En même temps, ils trouvent dans les protéines tumorales des taux en acide glutamique, en phénylomaline et en acide asparagique de l'ordre de 5 à 10 p. 100, pour chacune de ces substances.

Les résultats obtenus par ASCHER en 1907 (69) confirment ceux qui furent enregistrés un peu auparavant par NEUBERG (70), à savoir que les extraits aqueux de cancer dissolvent l'albumine du poumon normal, mais sont sans effet sur l'albumose du même organe. Dans une métastase hépati-

que d'un carcinome gastrique, l'analyse a fourni les pourcentages suivants: tyrosine = 1,3; leucine = 17; acide glutamique = 1; glycocolle = 4,92 (expérience rapportée par ROFFO).

NEUBERG (70), ABDERHALDEN et MEDIGRECEANU (71) en 1910, puis GOUBAU (72) en 1912, étudiant diverses tumeurs malignes humaines et animales, n'observent pas de différences appréciables avec les tissus sains, tout au moins pour la tyrosine, l'acide glutamique et le glycocolle contenus dans les hydrolysats.

Dans ces tout derniers temps enfin (1941) CHIBNALL et ses collaborateurs (73) concluent également à la similitude entre les tissus sains et les tissus tumoraux quant aux proportions d'acide glutamique et aspartique qu'ils renferment.

Les variations du tryptophane ont également fait l'objet d'un certain nombre de recherches.

Pour FASAL en 1913 (74), alors que l'épiderme normal contient 0,5 % de tryptophane, le tissu épithélial de carcinome en contient 1,7 %. De même le foie sain en comporte 1 % et le foie carcinomateux 1,6 %. Des augmentations semblables sont d'ailleurs observées dans le cancer du rat et de la souris. Par contre dans le cancer du sein, on ne trouverait pas trace de cet amino-acide.

Pour LANG en 1938 (75) la teneur en tryptophane varie chez le rat suivant les organes, pour présenter un maximum dans le rein, et un minimum dans la rate et le poumon. En utilisant les mêmes techniques, cet auteur a constaté que la valeur de l'azote du tryptophane relativement à l'azote total serait de 0,81 p. 100 dans le sarcome de JENSEN.

La même année, ROSENBOHM (76) a noté que le taux du tryptophane est essentiellement identique à l'intérieur des organes normaux et des mêmes organes cancérisés. Mais les chiffres varient par contre d'un tissu à l'autre, ainsi

d'ailleurs que d'un néoplasme à l'autre. Le carcinome de WALKER et les tumeurs au benzopyrène accusent par exemple une teneur en tryptophane particulièrement basse, avec respectivement 770 et 795 mgrs de ce mono-peptide pour cent de protéides totaux, alors que dans le sarcome de JENSEN le même pourcentage est de 902 mgrs.

Quant à la cystine, le problème n'a pas été résolu en ce qui la concerne et nous avons vu que les recherches ont surtout été poussées jusqu'ici vers un tripeptide qui l'englobe dans sa molécule, à savoir le glutathion.

c) Pour terminer ce paragraphe, nous signalerons encore quelques travaux épars (ROFFO et THOMAS) [150]:

C'est ainsi que BANG en 1903 (77) comparant la constitution chimique des néoplasmes et de leurs métastases, ne note pas entre eux de différences essentielles. Toutefois, BEEBE signale ultérieurement avoir extrait d'une adénopathie cancéreuse une nucléo-histone qui ne se trouvait pas dans la tumeur primitive.

Traitant maintenant des rapports chimiques entre les tumeurs malignes et les leucémies, BEEBE dit n'avoir constaté aucune différence entre les protéides d'un lymphosarcome et ceux d'une rate hypertrophiée de leucémique, alors qu'il avait pu observer de réelles dissemblances entre les protéides du lymphosarcome et celles de plusieurs tissus sains (foie, rate, pancréas, etc.).

Signalons enfin deux tentatives thérapeutiques curieuses. Ainsi VLES et de COULON (78), traitant des tumeurs spontanées du rat par un mélange contenant des acides aminés, des extraits de muqueuses digestives et de glandes endocrines, auraient observé leur disparition totale dans près de la moitié des cas. De même ROFFO (79), frappé de l'extrême rareté des néoplasies malignes dans le tissu muscu-

laire, songe à pratiquer chez le rat des injections intratumorales d'hydrolysats de muscle strié et rapporte avoir obtenu par ce moyen quelques succès.

Que pouvons-nous conclure de cet aperçu schématique sur le métabolisme tumoral des acides aminés? Bien qu'il faille être très prudent dans l'acceptation des résultats publiés, l'accord semble sur le point de s'établir relativement à la teneur en bases hexoniques et en tryptophane des tissus néoplasiques. Néanmoins ce problème demeure encore à l'étude. Pour le reste — c'est-à-dire pour les autres acides monoaminés — les rapports d'analyses parvenus jusqu'ici se montrent très incomplets et au surplus discordants, en sorte qu'il n'est pas possible pour le moment de prendre une vue d'ensemble sur la question.

*
**

Configuration stéréochimique du tissu cancéreux (Théorie de KÖGL).

On sait que les acides diaminés sont actifs sur la lumière polarisée à l'exception du glycolle qui, contrairement à tous les autres, ne possède dans sa molécule aucun carbone asymétrique. Il en résulte que tous ces protéides peuvent exister sous deux formes: la forme droite et la forme gauche, suivant le sens de rotation imprimé au plan de polarisation de la lumière.

Certains acides α — aminés se rencontrent dans la nature: ce sont les acides naturels ou mono-peptides, qui sont dits de la série l; la plupart en effet sont lévogyres et désignés par le préfixe l (—); quelques uns cependant sont dextro-

gyres: on les désigne alors par le préfixe d, ou mieux par la notation l (+) comme dans les exemples suivants:

alanine naturelle = d-alanine ou l (+) alanine

valine = d-valine ou l (+) valine

acide glutamique = ac. d-glutamique ou ac. l (+) glutamique etc...

Dans ces conditions, la lettre d se trouve réservée dans cette nomenclature aux amino-acides de synthèse, et les signes + ou — sont accolés suivant le pouvoir rotatoire que ceux-ci manifestent.

L'acide l (+) glutamique mérite bien, en particulier, le préfixe l qui lui est attribué, puisque KARRER a démontré qu'il a la même structure stéréochimique que l'acide aspartique naturel levogyre ou acide l (—) aspartique:

Cet acide présente une grosse importance puisque les conceptions modernes font de lui le pivot de tout le métabolisme intermédiaire azoté des amino-acides, au cours du phénomène dit de *transamination*.

Schématiquement, ce phénomène consiste dans la propriété que possède l'acide l (+) glutamique de céder très rapidement son radical NH_2 à l'acide pyruvique, en présence de minces coupes de muscles ou de purées musculaires en suspension dans une solution de bicarbonate de potassium. KRITZMANN a d'ailleurs fait observer que ce processus n'était pas limité au seul tissu musculaire strié, mais qu'il se retrouvait au niveau du muscle cardiaque, du cerveau, du foie, des reins *et, avec infiniment moins d'intensité, dans les tissus néoplasiques.*

Il semble d'ailleurs qu'il s'établisse concurremment une réactions d'oxydation, le NH_3 dégagé étant secondairement fixé par l'acide glutamique en excès, sous forme de glutamine:



Le rôle de l'acide glutamique — et plus généralement des acides aminés dicarboxyliques — dans la synthèse des acides aminés naturels et dans l'uréogenèse, donne à ces corps une place capitale dans le métabolisme protidique.

Ce sont ces considérations qui ont tout récemment amené F. KÖGL (80) à rechercher si les tissus cancéreux ne seraient pas caractérisés par la présence d'une proportion insolite d'éléments « droits », autrement dit par une « *racémisation* » qui modifierait plus ou moins profondément leur réactivité. Pour cela cet auteur s'est livré à des analyses stéréochimiques sur les protéines tumorales, d'autant plus délicates d'ailleurs à mener que, dans certains cas, le traitement ainsi appliqué entraînerait par lui-même une racémisation des acides aminés mis en expériences, notamment en ce qui concerne la sérine, la proline et la cystine.

Les résultats obtenus par le savant hollandais peuvent être résumés de la façon suivante :

— Dans les organes normaux, les amino-acides sont « gauches » dans la proportion de 100 p. 100.

— Dans les tumeurs bénignes, les amino-acides sont « gauches » dans la proportion de 97 à 98 pour cent.

— Dans les tumeurs malignes (spontanées et expérimentales) les amino-acides sont « gauches » dans la proportion de 50 à 60 pour 100.

L'acide glutamique ayant été étudié dans une série de cas, il apparaît que la proportion de sa forme « droite » est très nettement augmentée dans les tissus tumoraux. Tandis qu'elle est sensiblement nulle dans la plupart des organes normaux, elle atteint respectivement 15,6 p. 100 dans une tumeur de l'ovaire, 24,6 et 31,7 p. 100 dans deux cas de cancer du sein, et 42,6 p. 100 dans les tumeurs de l'épiploon du lapin.

Cette racémisation deviendrait donc caractéristique de la dégénérescence tumorale d'un tissu. Par elle s'expliquerait la résistance des éléments cancéreux vis-à-vis des ferments cellulaires habituels, lesquels sont à peu près exclusivement adaptés au métabolisme des corps « gauches » et ne peuvent ainsi s'opposer efficacement à la prolifération néoplasique. Cette interprétation paraît d'ailleurs d'autant plus vraisemblable que la lysine et l'acide glutamique jouent l'un et l'autre un rôle fondamental à la surface de la molécule pour en déterminer la réaction.

Au surplus, il n'est pas interdit de penser que les divers facteurs d'irritation chronique si souvent incriminés à l'origine du cancer agissent précisément en modifiant localement la structure des protéines. Sous leur influence les cellules perdraient la faculté de ne produire que des acides « naturels » ou « gauches » et deviendraient capables d'élaborer des mélanges racémiques.

La théorie de KÖGL telle qu'elle vient d'être exposée, a été infirmée tout d'abord par GRAFF (81), lequel n'aurait pas décelé d'acide glutamique racémique dans les hydrolysats chlorhydriques de 6 tumeurs malignes diverses.

Peu de temps après, CHIBNALL et ses collaborateurs (73), se basant également sur l'analyse de quelques néoplasmes, concluent dans le même sens et attribuent les résultats publiés par KÖGL à des majorations dans le taux de l'acide glutamique racémique provoquées par des déficiences de la méthode d'ABDERHALDEN et FUCHS, utilisée par cet auteur.

KÖGL et ERXLEBEN répondent à ces critiques (72) en incriminant à leur tour la technique de FOREMAN adoptée par CHIBNALL qu'ils jugent incapable d'isoler en totalité l'acide racémique.

A la suite de ces différentes publications, une controverse s'est engagée entre les différents auteurs, au cours de laquelle

le GRAFF, RITTENBERG et FOSTER d'une part (83), LIPMAN, BEHRENS, KABIT et BURCK d'autre part (84), ont apporté de nouvelles expériences à l'encontre de la doctrine de KÖGL.

A l'heure actuelle, il serait prématuré de prendre parti dans cette discussion. Dans tous les cas — si elle venait à être vérifiée — la théorie stéréochimique du cancer pourrait présenter un certain intérêt, non seulement du point de vue dogmatique, mais encore dans le domaine pratique. L'avenir nous dira si ces espérances sont fondées.

*
**

L'allusion faite il y a un instant aux arguments invoqués par LIPMAN et ses élèves nous amène à dire un mot, pour terminer, sur les ferments du tissu cancéreux. Ce sujet a été récemment débattu ainsi d'ailleurs que toute la question des fermentations, laquelle est actuellement en pleine voie de remaniement.

A ce propos on sait en effet, depuis les travaux de BERGMANN, que la désintégration physiologique des protéines doit être envisagée, non plus comme le résultat de l'action successive de plusieurs ferments poussant chacun de plus en plus loin les phénomènes hydrolytiques, mais comme la conséquence d'une action simultanée de plusieurs enzymes rigoureusement spécifiques spécialisés chacun dans l'attaque d'un groupement chimique déterminé, placé dans une position déterminée. Au cours du processus inverse de synthèse, d'autres diastases interviendraient pour assembler suivant un plan bien défini, et avec une unique précision, les amino-acides entre eux, la nature et l'ordre d'incorporation de ces éléments conférant à la molécule nouvelle ses propriétés chimiques et biologiques,

Nous ne pouvons décrire ici toutes les variétés de diastases protéolytiques, non plus que la classification des diverses peptidases (carboxypeptidases, aminopeptidases, dipeptidases, etc.). Aussi nous bornerons-nous à rappeler quelques faits qui concernent plus spécialement le métabolisme du tissu tumoral.

Pour nombre de biochimistes, ce qui caractériserait surtout la protéolyse du tissu cancéreux, c'est la rapidité avec laquelle elle s'effectue. Pour YOSHIMOTO notamment (48), l'autolyse des tumeurs serait de 50 % plus active que celle des organes sains, ce fait ayant pour cause une suractivité des ferments autolytiques, plutôt qu'une sensibilité spéciale des albumines néoplasiques vis-à-vis des agents diastasiques. Au cours de cette désintégration moléculaire il y aurait toujours de fortes libérations de bases hexoniques, en relation sans doute avec leur taux élevé dans les tissus cancéreux.

Certains auteurs vont plus loin. Pour eux, l'accélération de l'autolyse porterait non seulement sur les protéines totales, mais encore sur leurs produits de dédoublement tels que les polypeptides (ABDERHALDEN, NEUBERG, BLUMENTHAL). Ainsi le phénomène étudié serait, dans le cancer, à la fois plus actif et plus poussé.

Enfin on a soutenu que la protéolyse s'opérait dans les néoplasmes suivant un mode atypique. C'est ainsi que les polypeptides de synthèse seraient hydrolysés par les diastases des tissus cancéreux autrement que par les diastases des tissus normaux (ADDERHALDEN). Par exemple, le tripeptide d-alanyl-glycyl-glycine qui a un pouvoir rotatoire droit de $+ 30^\circ$ est hydrolysé par les enzymes des tissus cancéreux en glyocolle et en un dipeptide, le d-alanyl-glycine à pouvoir rotatoire droit de $+ 50^\circ$; au contraire, sous l'influence des diastases tissulaires normales, on obtient dans les

mêmes conditions de la d-alanine (α D = + 2°4) et de la glycyl-glycine.

L'étude récente de l'action de tissus en coupe a démontré l'existence de deux amino-acide-désaminases, que l'on peut inhiber séparément, et qui désaminent électivement, par un processus de déshydrogénation initiale, l'une les acides aminés de la série naturelle l ($\pm$), l'autre ceux de la série non naturelle d ($\pm$).

Or, précisément, LIPMAN et ses collaborateurs ont essayé d'évaluer la quantité d'acide glutamique contenue dans des hydrolysats de tumeurs en mesurant la désamination effectuée par la d-amino-acide-oxydase et n'ont pu démontrer la présence d'une teneur en acide droit supérieure à celle des tissus sains. Ayant calculé le pourcentage de l'N α aminé par rapport à l'N total, ils ont trouvé des valeurs de l'ordre de 1 à 3 % environ, aussi bien dans les tissus normaux que malins, autrement dit des quantités minimales dont l'existence peut d'ailleurs s'expliquer par la racémisation d'acide l pendant l'hydrolyse. C'est à la suite de ces recherches que nous avons déjà mentionnées qu'ils furent amenés à repousser les conclusions de KÖGL.

Cependant, au même moment, WALDSCHMIDT-LEITZ et HATSCHEK (85) ont signalé la présence dans le sérum des cancéreux d'une d-peptidase capable de scinder les peptides composés d'acides aminés de la série droite et qui n'existe pas dans la nature. Ils ont en outre réussi à faire apparaître des d-peptidases à titre de ferments de défense en injectant des d, l peptides au lapin. Enfin, par ce même procédé, ils ont réussi à inhiber le développement des tumeurs du goudron chez la souris.

Partant de ces résultats, ces auteurs ont proposé la recherche dans le sérum de polypeptidases actives sur certains peptides synthétiques comme nouveau moyen diagnostique

du cancer, susceptible de venir s'ajouter à tous ceux qui ont été précédemment décrits (voir^e page 33).

En réalité, ces conclusions sont loin d'être généralement admises. Elles ont au contraire soulevé de vives critiques de la part notamment de BAYERLÉ et PODLOUCKY (86 et 87), puis de GLEY et LAUR (88) et avec eux d'un certain nombre d'autres chercheurs.

Ainsi donc, malgré tous les travaux effectués, l'accord n'a pu encore s'établir sur l'existence ou non de ferments spécifiques du cancer. Cette question mérite pourtant d'être reprise de très près en raison de toute l'importance qui s'attache à sa solution.

*
**

Maintenant que nous venons de refaire à grands pas le chemin déjà parcouru par tous ceux qui se sont attaqués au problème biochimique du cancer, il nous est possible de mesurer le trajet qui reste encore à effectuer avant de parvenir à une solution définitive de la question. Sur certains points toutefois, l'accord semble être bien près de se réaliser : l'hyperalbuminose paradoxale des cancéreux, l'inversion du rapport sérine-globuline du sang, l'hyperazotémie et l'hyperpolypeptidémie, l'augmentation de la teneur en glutathion, en bases hexoniques et en tryptophane des tissus tumoraux... sont autant de faits, sinon admis, du moins considérés comme très probables. Mais à côté de ces quelques résultats tangibles, que d'obscurités persistent qui n'ont pu encore être dissipées.

Si à présent, négligeant les accidents de la route, nous cherchons à discerner l'orientation générale des travaux en cours, nous nous apercevons que dans la grande majorité des cas les auteurs se sont efforcés avant tout de définir

les caractéristiques humorales des néoplasies, délaissant par suite quelque peu l'aspect proprement tissulaire du problème. Ainsi donc, il semble que l'attention se soit jusqu'ici portée, moins sur le phénomène lui-même que sur son reflet, moins sur le facteur primitif que sur ses incidences.

Dans ces conditions, et devant les incertitudes qui planent encore sur ce sujet, nous avons décidé de conduire nos investigations vers *l'étude de la molécule protéique telle qu'elle s'est édifiée au sein même des tumeurs, afin de voir si sa structure diffère essentiellement de celle des tissus sains environnants*. Dans cette entreprise, notre tâche s'est trouvée d'ailleurs grandement facilitée grâce à certains perfectionnements apportés à la technique chimique au cours de ces dernières années.

L'exposé qui va suivre de nos recherches personnelles est dominé par le souci de préciser deux notions qui nous ont paru essentielles autant qu'indissociables. Nous avons dû en répartir la discussion sur plusieurs chapitres dont l'ordre de succession a été conditionné par la nécessité de décrire en leur temps et suivant une certaine progression les méthodes utilisées.

1° *Détermination de la nature exacte ainsi que de l'importance relative des éléments entrant dans la constitution de la molécule protéique au cours des tumeurs.*

A cet effet, nous avons tout d'abord recherché quelle pouvait être la teneur globale en *acides monoaminés* et en *acides diamminés* des protéines tumorales. Après hydrolyse totale de ces dernières, nous avons pratiqué sur les hydrolysats obtenus des *réactions de permutation*, dans le but de séparer électivement l'un de l'autre, ces deux groupes de monopectides que nous avons ensuite dosés (chap. II).

Puis nous avons essayé d'évaluer colorimétriquement le taux atteint individuellement par certains amino-acides considérés comme susceptibles de jouer un rôle fondamental dans le métabolisme des tissus néoformés (chapitre V). A l'issue de ce chapitre, nous avons proposé une nouvelle méthode de dosage différentiel de la lysine.

2° Etude du mode d'assemblage et du degré de cohésion de ces divers éléments constitutifs.

Cette seconde partie a pu être réalisée grâce à l'application de la méthode de « formol-titration » de SÖRENSEN (Chap. I), puis de la méthode des permutations (chap. IV) sur des hydrolysats correspondant à des étapes de plus en plus poussées de la désintégration protéique.

Toutes les expériences que nous venons d'indiquer ont été menées simultanément sur des tissus sains de même origine histologique que les tumeurs, de manière à permettre l'établissement de points de comparaison en vue de l'interprétation ultérieure des résultats.

Chemin faisant, nous avons été amenés à compléter l'ensemble de ces travaux par quelques investigations complémentaires.

C'est ainsi qu'ayant noté au cours des opérations d'hydrolyse la formation de quantités importantes de substances de déchet (matières humiques et ammoniacque), il nous a paru intéressant de déterminer aux dépens de quels acides aminés s'effectuait plus particulièrement cette déperdition d'azote. Les recherches d'ordre essentiellement chimique que nous avons effectuées dans ce sens ont fait l'objet du chapitre III.

En outre, nous avons voulu vérifier si le comportement des tumeurs expérimentales pouvait être assimilé à celui

des tumeurs spontanées de l'homme, les seules en vue jusqu'alors. Nous nous sommes adressés pour cela à un lot de carcinomes du type FLEXNER-JOBLING prélevés sur des rats, et nous avons renouvelé sur ces pièces toute la gamme des manipulations déjà décrites.

Munis de cette documentation nous avons pensé pouvoir aborder avec fruit la discussion du *problème sur la spécificité des albumines tumorales* et apporter une part contributive à sa solution.

RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE I

DOSAGE TITRIMETRIQUE DES AMINO-ACIDES DANS LES TUMEURS PAR LA RECHERCHE DE « L'INDICE - FORMOL »

I. — BUT DE LA MÉTHODE

Cette première série d'expériences se rapporte à la notion que nous venons d'exposer du *degré de « cohésion » de l'édifice protéique au cours du développement des tumeurs.*

Pour résoudre ce problème, nous nous sommes adressés tout d'abord à la *méthode de la « formol-titration » de Sørensen* dont le principe est bien connu et peut se schématiser de la façon suivante:

Lorsqu'on ajoute, à une solution contenant des amino-acides, de l'aldehyde formique, celui-ci intervient en bloquant la fonction amine primaire de ces mono-peptides (avec production de radicaux méthylènes) et en libérant la fonction carboxyle. L'acidité ainsi dégagée, étant proportionnelle à la quantité de radicaux méthylènes formés,

permet une évaluation exacte du nombre d'atomes d'azote introduits dans la réaction.

La détermination de « *l'indice-formol* » constitue donc, en vue du dosage acidimétrique des acides aminés engagés dans un complexe protidique, un moyen pratique excellent qu'il nous a suffi d'adapter au cas particulier des protéines tumorales.

Pour dissocier les amino-acides élémentaires de l'édifice où ils s'intègrent, nous avons eu recours au procédé habituel de l'*hydrolyse* préalable. Mais cette hydrolyse peut être effectuée soit par voie chimique, soit par voie diastasique. Or, nous avons dû renoncer à cette dernière, bien supérieure pourtant du point de vue théorique, celle-ci nous étant apparue, au cours d'expériences préliminaires, comme incapable d'assurer une désintégration satisfaisante des substances protéiques qui lui sont soumises (recherches effectuées à partir de la trypsine). Nous avons donc été conduits à faire appel à la seconde méthode qui utilise tantôt les bases, tantôt les acides. A l'heure actuelle, l'hydrolyse basique ne semble guère employée dans les études générales, bien qu'elle soit très efficace, non seulement à cause du pouvoir désaminant des alcalis, mais encore par les décompositions électives de l'arginine et de la cystine qu'elle réalise. L'hydrolyse acide, par contre, est très largement mise à contribution par la majorité des auteurs, et c'est avec celle-ci qu'ont été effectués la plupart des travaux sur la composition des protéides.

Mais l'accord est loin de s'être établi sur le mode d'action de cette hydrolyse, ainsi d'ailleurs que sur le choix des divers acides utilisés. Nous ne citerons que pour mémoire, l'hydrolyse par l'acide fluorhydrique d'HUGOUNENQ et MOREL (89) qui a rendu des services, mais qui est d'un maniement difficile pour les recherches en série. Peu employés égale-

ment sont les acides formique, acétique et oxalique. Restent les *acides forts*. Henri MATHIEU, dans un article publié en 1909 (90), a démontré qu'à même acidité, les acides chlorhydrique et sulfurique ont une activité très différente sur les protéines tissulaires. C'est ainsi que l'état atteint après onze heures avec le premier ne l'est guère qu'après cinquante heures avec le second. L'auteur en conclue à la supériorité de l'HCL, partageant en cela l'opinion formulée par KOSSEL et KUTSCHER (63). Depuis lors, la préférence est nettement donnée à ce dernier acide, si bien que c'est à lui que nous nous sommes constamment adressés dans la poursuite de nos recherches.

Ce n'est cependant pas que l'hydrolyse acide soit sans inconvénients. Elle provoque inmanquablement la formation, à côté des acides aminés, de substances parasites, à savoir les matières humiques et l'ammoniaque.

L'azote ammoniacal peut évidemment provenir des amides (asparagine, glutamine) de la protéide, mais aussi des acides aminés ayant subi un début de désamination.

Quant à l'azote humique, il prend naissance à partir de divers acides aminés, dont le principal incriminé est le tryptophane. Sa constitution et son mode de formation sont encore controversés: nous n'insisterons pas davantage pour le moment sur ce point, nous réservant d'y revenir ultérieurement dans le courant d'un autre chapitre.

Quoi qu'il en soit, malgré les pertes inévitables en azote liées à l'emploi des acides forts, nous nous sommes ralliés en définitive à ce mode d'hydrolyse qui nous paraît susceptible actuellement d'assurer au mieux la résolution des protéines en leurs éléments constitutifs.

Ainsi donc, nous disposons d'une part d'un moyen de dissocier la molécule protéique en ses éléments essentiels, les acides aminés, par rupture des liaisons peptidiques qui

les unissent. Nous venons de voir qu'il suffit pour cela de recourir à une hydrolyse acide dont on pourra, par étapes, suivre les effets jusqu'à obtention d'un morcellement total de l'édifice.

D'autre part, nous avons pris connaissance d'une méthode de dosage qui rend possible l'estimation, à chacun de ces stades successifs, de la quantité d'amino-acides libérés et passés en solution: il s'agit de la méthode de SÖRENSEN.

Grâce à l'emploi conjugué de ces deux procédés, il nous est donc permis d'acquérir une première notion importante: à savoir le degré de cohésion qui existe entre les éléments de la chaîne polypeptidique, ou — pour parler par images — le degré de solidité d'une construction dont le « ciment d'union » peut offrir une résistance plus ou moins grande aux tentatives de désagrégation.

C'est sur ce point qu'ont porté tout d'abord nos recherches.

*
**

II. — *Technique utilisée au cours de nos expériences*

Conformément à une règle générale que nous nous sommes assignée, toutes nos investigations ont porté simultanément sur la tumeur elle-même et sur un fragment du tissu sain correspondant, prélevé au niveau du même organe, dans une zone ayant échappé à l'intrusion des éléments pathologiques. Nous avons pensé qu'une telle étude comparative pourrait nous fournir un moyen de saisir sur le vif, et d'une manière plus précise, les modifications apportées par le développement tumoral à l'édifice protéique du tissu d'origine.

La technique que nous avons adoptée comporte plusieurs temps successifs que nous allons maintenant décrire avec quelque détail.

1° *Obtention d'une protéine à partir des tissus frais.*

Les pièces anatomiques étudiées ont toujours été des *pièces opératoires*. Une telle restriction dans le choix des prélèvements, si elle présente l'inconvénient de limiter la gamme des tumeurs examinées aux seules variétés accessibles à la chirurgie, offre par contre ce gros avantage qu'elle permet de manipuler constamment sur des tissus frais, n'ayant subi aucune altération cadavérique, contrairement aux pièces d'autopsie.

Après un séjour de vingt-quatre heures dans de l'alcool à 95°, les fragments choisis sont découpés aux ciseaux en parcelles aussi petites que possibles. Puis, selon la technique indiquée par CAHN (91), la bouillie tissulaire ainsi obtenue est introduite dans la cartouche d'un appareil de KUMAGAWA et soumise pendant huit heures à l'action continue de l'alcool à 95° bouillant. Le résidu que l'on sort de la cartouche est d'habitude parfaitement dégraissé. S'il en était autrement (cas par exemple d'un organe très riche en cellules adipeuses tel que le sein), il y aurait alors intérêt à renouveler l'opération en utilisant cette fois le trichlorure d'éthylène comme solvant des lipides (note 1).

La poudre ainsi extraite contient encore des traces de glycogène et des cendres dont il convient de la débarrasser. Pour la purifier, il faut la soumettre à l'action de l'acide

NOTE 1. — L'épuisement par l'alcool entraîne toujours, avec les lipides, une certaine quantité « d'azote extractif », également alcool-soluble.

acétique dilué, suivant une technique inspirée de JANNEY (92). A cet effet, un poids connu de poudre, préalablement séché à l'étuve et très finement divisé, est additionné à deux reprises d'acide acétique à 1 %, dans la proportion de 30 cm³ par gramme de résidu sec. On porte chaque fois à l'ébullition et on décante. On extrait ensuite deux fois la poudre avec les mêmes quantités d'eau bouillante, on filtre et on sèche rapidement le produit resté sur le filtre en le maintenant à l'étuve à 40° jusqu'à poids constant.

Dans ces conditions, on obtient des protéines sensiblement pures qui vont pouvoir être utilisées.

2° *Hydrolyse de la protéine par l'acide chlorhydrique dilué.*

Des prises d'essai de poudre de protéine de 200 mgr. chacune (quantité pesée très exactement au 1/10 de mgr.) sont placées dans autant de tubes de violette en pyrex et additionnées de 4 cm³ d'HCl à 20 % (note 1). Les tubes ainsi préparés sont mis, soit à l'autoclave à 140° (A. ROCHE) (93), soit sur bain de sable à la pression atmosphérique (note 2), en vue d'obtenir une hydrolyse acide sous l'effet

NOTE 1. — Nous avons préféré recourir à ce procédé plutôt qu'à celui indiqué par ENSELME dans sa thèse (94). Cet auteur a réalisé ses hydrolyses dans de grands ballons de 2 litres, munis d'un réfrigérant ascendant du type Vigreux. Il a employé d'ordinaire 10 grammes de protéines pour 200 grammes de solution acide. Les prélèvements étaient opérés au sein de cet hydrolysate à des intervalles de temps variables suivant l'allure plus ou moins rapide du phénomène étudié, et en quantité toujours aussi minime que possible (3 à 4 cmc.). Malgré les constatations faites par l'auteur qui affirme avoir obtenu par son procédé un milieu parfaitement homogène par simple agitation, nous avons jugé plus sage de répartir nos prises d'essai dans des tubes séparés, destinés chacun à un dosage.

NOTE 2. — Dans des conditions telles que l'hydrolysate demeure à sa température d'ébullition pendant toute l'expérience.

de la chaleur. La durée de l'opération varie suivant les prélèvements et suivant le mode de chauffage employé. Elle est respectivement de 20, 40 et 90 minutes, 3 heures, 4 h. 30... à l'autoclave, tandis qu'elle s'échelonne sur 2 heures, 4 heures, 8 heures, 12 heures, 24 heures, 36 heures, 48 heures... lorsqu'on utilise le bain de sable. Dans certains cas, nous avons eu recours à un procédé mixte, en réservant la chaleur sous pression pour les stades avancés de l'hydrolyse.

Ainsi nous avons pu obtenir à chaque fois toute une gamme d'échantillons correspondant à une désintégration de plus en plus poussée de la protéine mise en expérience.

3° *Elimination des matières humiques.*

Nous avons déjà eu l'occasion de signaler la formation inévitable au cours de l'hydrolyse acide de substances particulières, de coloration noirâtre, appelées « matières humiques ». Leur élimination s'impose dans tous les cas, non seulement parce que l'azote qui entre dans leur constitution est susceptible de fausser les dosages ultérieurs, mais encore parce que la teinte spéciale qui les caractérise risque de rendre délicate, sinon impossible, l'interprétation des réactions colorées qui peuvent être ultérieurement mises en jeu.

Pour chasser ces matières humiques il suffit de traiter l'hydrolysât à froid par le noir animal qui le décolore complètement.

En pratique, nous opérons de la façon suivante: le contenu de chacun des tubes de Pyrex est versé sur un filtre; le filtrat et les eaux de lavage sont recueillis dans un ballon jaugé et portés à un volume donné (50 cm³). La liqueur de coloration « rouge brun » obtenue est traitée par 1 gramme de noir animal et filtrée à nouveau. C'est sur cette solution

parfaitement limpide que l'on pourra procéder à la recherche de « l'indice-formol ».

Pour des raisons d'ordre matériel liées aux circonstances actuelles, nous avons dû préférer cette technique à celle préconisée dès 1907 par SÖRENSEN et JESSEN-HANSEN (95), lesquels ont pu réaliser une bonne élimination de la matière colorante des hydrolysats par précipitation au moyen de chlorure d'argent (consulter à ce sujet la monographie de MITCHELL et HAMILTON (96)).

4° Détermination de « l'indice-formol » de Sørensen.

La technique du dosage telle que nous l'avons pratiquée peut être schématisée de la façon suivante: le liquide étudié ayant été préalablement neutralisé en présence de phénolphtaléine, on lui ajoute du formol en quantité suffisante pour libérer la totalité des groupements carboxyles. La neutralité est ensuite établie à nouveau par addition d'une solution titrée de soude. Le nombre de centimètres cubes de soude ainsi nécessaire, évalué en azote-formol (on sait en effet que 1.000 cm³ de NaOH/N correspondent à 14 gr. 46 d'azote) permet d'exprimer le taux de l'indice de SÖRENSEN.

Nous avons respecté au cours de ces manipulations certains détails de technique recommandés par ENSELME (loc. cit.) et nous leur avons adjoint quelques précautions supplémentaires en relation avec les conditions particulières de notre expérimentation:

1° La solution de soude que nous avons utilisée était au titre de N/10 et fraîchement préparée;

2° La neutralisation du formol a été réalisée aussi exactement que possible (coloration rosée très discrète à la phénolphtaléine) et contrôlée avant chaque nouvelle série de dosages;

3° Chaque prise d'essai correspondait à 10 cm³ du filtrat protéique préparé suivant la méthode précédemment indiquée et additionné d'une quantité sensiblement égale d'eau distillée. Aussi bien dans la première que dans la seconde neutralisation (c'est-à-dire avant et après addition de formol), les virages ont été appréciés en prenant comme base la teinte rosée la plus faible de la phénolphtaléine, celle-ci témoignant pour ENSELME d'un pH aux environs de 8,3-8,4;

4° La quantité totale de formol mise en jeu a été déterminée de telle façon qu'une addition nouvelle pratiquée au delà de ce taux n'entraîne plus la décoloration et laisse intacte la teinte légèrement rosée obtenue sous l'influence de la soude;

5° Pour être assuré de l'exactitude des résultats, deux dosages successifs ont été répétés à chaque fois sur le même liquide;

6° Les opérations ont toujours été menées de front et simultanément sur les filtrats du tissu tumoral et du tissu sain correspondant, de manière à obtenir une identité complète de technique et des résultats absolument comparables.

5° *Réaction du biuret.*

A chacun des stades, le degré atteint par l'hydrolyse a été concurremment apprécié par la réaction du biuret pratiquée sur un prélèvement du filtrat. On sait que cette réaction est spécifique de la liaison amidique. Par suite, sa positivité persiste tant qu'il demeure dans le milieu des polypeptides non dissociés. Par contre, le passage à la négativité annonce une hydrolyse complète de la protéine et la résolution totale de celle-ci en ses amino-acides constitutifs — théoriquement, tout au moins, ainsi que nous aurons l'occasion de le vérifier dans un instant.

COURBES HYDROLYTIQUES DES PROTEINES TUMORALES

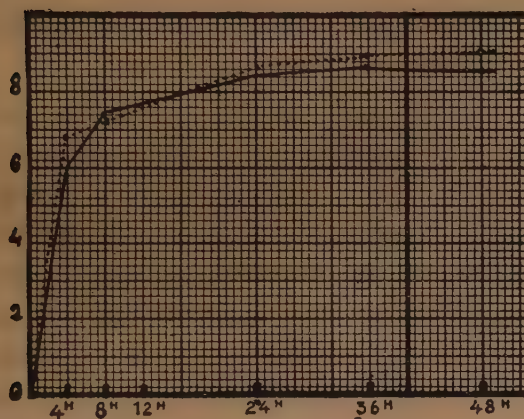


FIG. N° 1. — Tumeur n° 13. *Leiomyome utérin.*

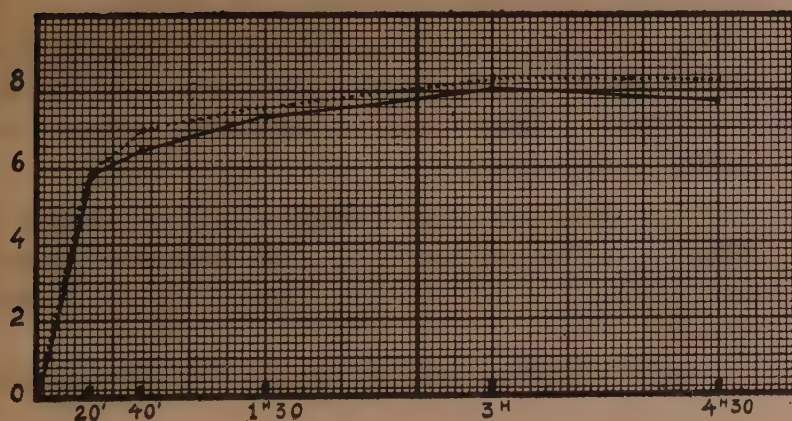


FIG. N° 2. — Tumeur n° 3. *Cancer du rectum.*

{ — tissu tumoral
 { tissu sain

III. — RÉSULTATS OBTENUS

Un coup d'œil jeté sur les tableaux n° II ci-contre, ainsi que sur les quelques tracés qui les illustrent, nous permet de formuler les constatations suivantes :

1° *L'hydrolise s'opère toujours suivant un même rythme* quelle que soit la nature de la protéine mise en expérience.

Tout d'abord très rapide au cours des vingt premières minutes à d'autoclave et des quatre premières heures sur bain de sable, elle se ralentit progressivement par la suite pour atteindre *un point caractéristique* qui paraît correspondre à 3 heures lorsqu'on emploie le premier procédé et à 24 heures lorsqu'on utilise le second. A partir de ce moment l'évolution est en effet variable. La plupart du temps le tracé se maintient dès lors indéfiniment en plateau. Mais il peut parfois aussi présenter une ascension légère persistante, ou au contraire une discrète inflexion.

Nous aurons dans le prochain chapitre à revenir sur ces divers faits et à les interpréter, notamment en ce qui concerne la valeur de ce « point caractéristique » auquel nous venons de faire allusion.

2° *Les valeurs en azote* calculées par la méthode de SÖRENSEN oscillent autour des moyennes ci-après, lorsqu'on utilise l'ébullition sur bain de sable en présence d'HCl à 20 % :

— après 2 heures d'ébullition = 5 gr. 50 de N pour 100 de protéines;

— après 4 heures d'ébullition = 7 gr. 30 de N pour 100 de protéines;

— après 24 heures d'ébullition = 8 gr. 40 de N pour 100 de protéines.

Azote dosé par la méthode de SORENSEN et rapporté à 100 gr. de protéines (valeur exprimée en grammes)

I. — HYDROLYSE SUR BAIN DE SABLE (note 1)

Durée de l'expérience	T. N° 1		T. N° 2		T. N° 6		T. N° 7		T. N° 12		T. N° 13		T. N° 14		T. N° 15	
	Sarcome		Epith rectal		Epith. du sein		Epith. du sein		Epith. du corps utérin		Leïomyome utérin		Leïomyome utérin		Leïomyome utérin	
	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T
2 heures	»	4.20	6.15	6.50	»	»	4.35	5.05	4.15	4.15	»	»	4.90	4.90	5.25	5.40
4 heures	8.50	7.25	6.85	7.05	7.60	6.70	6.05	6.70	6.50	5.95	6.85	6.15	6.85	7.60	6.50	6.85
6 heures	8.90	7.95	7.25	7.40	8.15	7.75	»	»	7.60	6.50	7.30	7.40	7.75	7.75	7.60	7.40
12 heures	»	8.25	»	»	»	8.15	»	»	»	»	»	»	8.15	7.95	7.75	7.60
24 heures	9.20	8.50	8.10	8.30	8.85	8.50	7.60	7.40	8.50	8.10	8.75	8.40	8.15	8.30	7.95	7.75
36 heures	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	8.85	8.70	»	»	»	»
48 heures	9.15	8.65	8.10	8.30	8.85	8.85	»	»	8.50	8.30	9.05	8.55	8.15	8.30	7.95	7.75

II. — HYDROLYSE A L'AUTOCLAVE

Durée de l'expérience	T. N° 3		T. N° 10		T. N° 11		T. N° 16		T. N° 5		T. N° 19	
	Epith. du rectum		Epith. du col utérin		Epith. du col utérin		Epith. du col utérin		Cancer de l'intestin		Alb. de Bence- Jones	
	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T
20 minutes	5.80	5.80	6.70	7.00	5.80	5.40	5.40	5.40	8.30	7.00	7.00	6.80
40 minutes	7.00	6.50	7.60	7.25	7.25	6.25	6.50	6.35	9.40	8.30	7.95	7.80
90 minutes	7.60	7.25	8.70	8.30	»	»	7.25	7.05	»	»	8.50	8.45
3 heures	8.30	8.10	9.60	9.20	8.10	7.60	7.75	7.60	9.75	9.05	8.70	8.45
4 h. 30	8.30	7.75	9.40	9.20	»	»	»	»	»	»	»	»

NOTE 1. — Dans ces deux tableaux, comme d'ailleurs dans tous ceux qui suivent, l'exactitude absolue de la seconde décimale ne saurait être garantie.

Ces résultats sont de même ordre que ceux précédemment obtenus par ENSELME (loc. cit. p. 52) dans des conditions sensiblement analogues. Opérant notamment sur 100 grammes de caséine, cet auteur a trouvé un taux d'azote-formol de 7 gr. 84 après 5 h. d'hydrolyse à 100°.

3° Quel que soit le tracé envisagé, la *réaction du biuret*, d'abord positive jusqu'à la quatrième heure sur bain de sable et jusqu'à quarante minutes à l'autoclave, *devient négative au delà de ces délais*. Cette constatation est intéressante à noter parce qu'elle confirme cette notion déjà connue, et soulignée entre autres par OSBORNE et JONES (97), que la réaction du biuret vire au cours de l'hydrolyse avant que celle-ci ne soit totale. L'apparition du virage ne constitue donc pas un test sûr pour apprécier la fin de l'opération.

4° *Les courbes hydrolytiques d'une tumeur et du tissu sain correspondant ont, dans la règle, le même aspect — à un certain décalage près.*

Ce décalage est toujours minime (de l'ordre par exemple de 0 g. 30 pour 100 de protéines). Ordinairement il s'établit au profit de la partie saine dont le tracé surplombe ainsi de très près celui de la tumeur.

Plus rarement le phénomène est inversé (par exemple dans la tumeur rectale n° 2). Dans certains cas enfin, et notamment dans les fibrômes, les deux courbes présentent à leur début quelques incertitudes et s'entrecoupent avant de prendre leur physionomie définitive.

Toutes ces constatations paraissent indiquer dans l'ensemble que *la libération des amino-acides à partir des tissus hydrolysés s'effectue de manière sensiblement égale et parallèle, qu'il s'agisse de la partie saine ou de la tumeur.*

EN DÉFINITIVE. — *Courbes de même profil, s'inscrivant la plupart du temps l'une dans l'autre de manière très étroite.*

Ceci nous permet d'ores et déjà de penser qu'il existe une véritable identité de structure entre le tissu sain et le tissu de néoformation tout au moins en ce qui concerne le mode d'assemblage et le degré d'union de leurs éléments constitutifs.

Reste à savoir maintenant si le matériel de construction utilisé dans l'un et l'autre cas est le même.

C'est ce que nous allons rechercher dans le prochain chapitre.

CHAPITRE II

DOSAGE DES COMPOSANTS CHIMIQUES DES PROTEINES TUMORALES (polypeptides, acides diaminés et monoaminés) APRES HYDROLYSE TOTALE PAR LES ACIDES FORTS

I. — BUT DE CES RECHERCHES

La molécule albuminoïde peut être comparée à une énorme mosaïque dont les éléments sont presque exclusivement formés par des acides aminés. Sous l'influence de phénomènes d'hydrolyse, que sont capables de provoquer des agents aussi divers que les acides, les alcalis et les diastases, cette mosaïque peut s'éparpiller en une infinité de fragments de taille et de composition fort différentes, suivant le mode d'hydrolyse qui a joué.

Mais la molécule protéique n'est pas ainsi pulvérisée instantanément en ses divers composants, et avant qu'elle n'en arrive à ce stade d'extrême division que représentent les acides aminés, elle doit se partager en fragments plus ou moins importants, les polypeptides, formés eux-mêmes par un agrégat d'amino-acides.

Au cours des expériences dont l'exposé va suivre, nous

avons tenté précisément de dissocier les protéines tumorales en ces éléments constitutifs auxquels nous venons de faire allusion.

Nous avons encore eu recours à cet effet à l'hydrolyse à l'autoclave en présence d'un acide fort dilué, selon la méthode indiquée dans le chapitre précédent. Mais ici l'opération a été poussée d'emblée jusqu'à son terme ultime, c'est-à-dire jusqu'à dislocation complète de la molécule protéique en ses principes élémentaires.

Ensuite les matières humiques et l'ammoniaque, formées aux dépens de l'azote ainsi traité, ont été chassées suivant une technique spéciale dont le détail sera indiqué plus loin.

C'est sur la solution obtenue après ces éliminations que les manipulations que nous allons maintenant décrire ont pu être pratiquées.

1° *Précipitations trichloracétique et phosphotungstique.*
Dosage des polypeptides par la méthode du « double azote » de Cristol.

Il convenait tout d'abord d'isoler « les pierres les plus grosses de l'édifice protéique », à savoir les polypeptides. Pour cela, il était nécessaire de trouver une technique permettant de séparer ces composés en totalité et à l'exclusion de tout autre. Nous nous sommes adressés pour cela à la méthode préconisée par CRISTOL (98 et 99) dans la recherche de « l'indice de polypeptidémie » (encore appelé « double azote » par WOLF), méthode qu'il nous a suffi d'adapter au cas particulier des néoformations tissulaires.

Le principe qui est à la base de la détermination du « double azote » peut être schématisé comme suit:

a) On procède d'abord sur un premier échantillon à la désalbumination restreinte de MOOG au moyen de l'acide trichloracétique à 20 %, lequel assure l'éviction de l'azote protéique — qui précipite — et ne laisse passer dans le filtrat que l'azote non protéique (c'est-à-dire celui qui est contenu dans les acides aminés et les polypeptides).

b) Un second échantillon est ensuite soumis à une désalbumination d'action plus étendue par l'acide lutéophosphotungstique au cinquième, dans les conditions précisées par CRISTOL. Cet acide a en effet la propriété de précipiter l'ensemble des protéides et des polypeptides, les acides aminés étant au contraire entraînés dans la solution. Comme le traitement trichloracétique a provoqué par ailleurs l'élimination des protéides, on conçoit aisément que la différence entre les azotes dosés dans le premier et le second filtrat puisse correspondre exactement à *l'azote polypeptidique*.

On sait que l'interprétation donnée par CRISTOL pour expliquer les résultats de cette double précipitation n'a pas été sans soulever quelques controverses. D'une manière générale on reproche à la méthode de n'être pas aussi sélective que ne l'indique son auteur, « l'indice de polypeptidémie », pour certains, ne représentant pas exclusivement ni totalement l'azote polypeptidique. C'est ainsi, entre autres, que pour ACHARD, LEVY et MARYNOWSKY (100) la désalbumination restreinte fournirait un taux d'azote excessif résultant d'une hydrolyse partielle des protéides. LOISELEUR et ses collaborateurs (101) estiment par contre qu'une partie importante des polypeptides du sérum sanguin n'apparaîtrait pas dans les dosages, car, adsorbée par les protéines, elle serait entraînée dans la coagulation de celles-ci, au moment de la défécation trichloracétique.

Enfin, pour MARTENS (102), le double azote comporterait plus d'amino-acides que de polypeptides.

On trouvera dans la thèse de J. FOURCADE (103), une excellente réfutation de toutes ces critiques. Evidemment on peut reprocher au procédé décrit de fournir des résultats dont la rigueur n'est peut-être pas absolue, mais à vrai dire toute tentative faite sur ce terrain se heurte obligatoirement à des difficultés quasi insurmontables. Le terme de polypeptide désigne en effet indifféremment des composés fort distincts: tandis que les plus simples se rapprochent beaucoup par leurs caractères des acides aminés, d'autres plus complexes s'apparentent aux peptones, voire même aux albumoses, c'est-à-dire à des corps dont certains sont déjà très proches des véritables protéides. Devant une gamme aussi étendue, comment s'étonner dès lors des quelques incertitudes présentées par les dosages, et pourquoi s'empresser aussitôt de parler des « défaillances » de la méthode.

Nous regrettons de ne pouvoir insister ici sur l'argumentation fournie par FOURCADE, étant obligés de nous limiter dans notre sujet. Mais nous concluerons avec lui, en reconnaissant à la technique de CRISTOL *un intérêt pratique indiscutable* dans la détermination quantitative des produits de dégradation intermédiaire entre les protéides et les amino-acides. Au reste, l'introduction de la recherche de « l'indice de polypeptidémie » dans le domaine clinique a été fertile en résultats particulièrement intéressants et cette notion suffirait déjà amplement à justifier le principe de la méthode (note 1).

NOTE 1. — Nous aurons l'occasion de revenir ultérieurement avec plus de détails sur la composition exacte du « double azote » (voir chap. v, p. 139, Dosage de la lysine).

2° *Permutations trichloracétique et phosphotungstique.*
Séparation des acides diaminés et des acides monoaminés restés en solution.

Au cours des opérations qui précèdent, nous nous sommes efforcés d'extraire de l'édifice protéique ses « moëllons » les plus volumineux, à savoir les protéides et les polypeptides. A cet effet, nous avons fait agir sur les hydrolysats obtenus à l'autoclave, d'une part de l'acide trichloracétique, d'autre part de l'acide phosphotungstique, et nous avons noté à chaque fois s'il apparaissait ou non un précipité correspondant aux éléments cités.

Ce premier temps réalisé, il convenait dans l'affirmative de rechercher s'il était possible de pousser plus loin la désintégration des complexes restés en solution. C'est dans ce but que nous nous sommes adressés aux « réactions de permutation ».

On désigne sous le nom commercial de « *permutite* » un silicate double d'aluminium et de sodium appartenant au groupe chimique des *zéolithes synthétiques*.

On sait que ces zéolithes sont susceptibles, lorsqu'elles sont mises au contact d'une solution contenant des cations différents des leurs, et dans certaines conditions déterminées, d'échanger leurs propres cations (*dits cations mobiles*) contre ceux qui ont contenus dans la solution.

Or ces *phénomènes d'échanges de bases*, loin de n'intéresser que les seuls cations métalliques comme on le croyait autrefois, s'appliquent tout aussi bien à une série de corps azotés jouant le rôle de cations minéraux comme $(\text{NH}_4)^+$, ou de cations organiques, ces derniers répondant à la formule générale $(\text{RNH}_2\text{H})^+$. Ainsi se trouvent réalisées de

véritables *réactions d'équilibre* entre la permutite et les composés indiqués.

Ces faits permettent de comprendre l'action de la zéolithe sur les liquides organiques renfermant des acides aminés avec leurs polypeptides. Cette possibilité de fixation sélective de certains amino-acides par la permutite a d'ailleurs été particulièrement bien mise en évidence par MM. CRISTOL et FOURCADE dans une de leurs publications récentes (104). Opérant sur divers constituants azotés du sang en solution aqueuse, ces auteurs ont abouti aux conclusions suivantes:

1° La permutite capte l'ornithine et les bases hexoniques (lysine, arginine et histidine) dans des proportions atteignant 93 à 99 %, c'est-à-dire d'une manière à peu près complète;

2° Sur tous les autres composés étudiés (acides mono-aminés ainsi que leurs dipeptides ou tripeptides), elle n'entraîne que des fixations minimales, généralement inférieures à 10 %, et atteignant au maximum de 15 à 15,5 % (tryptophane, acide glutamique).

En définitive, la filtration sur permutite constitue un moyen très satisfaisant pour séparer les acides diaminés et leurs polypeptides d'avec les autres amino-acides contenus en solution. Tandis que les premiers sont adsorbés par le silicate et retenus sur le filtre, les autres au contraire passent à peu près intégralement dans le filtrat.

Cette conclusion est d'ailleurs tout à fait en accord avec celle formulée par WHITEHORN (105). En effet, suivant cet auteur, la permutite fixerait exclusivement les composés comportant une constante de dissociation basique supérieure ou égale à 5×10^{-9} , ce qui revient à désigner spécifiquement l'ornithine et les bases hexoniques qui, seules, présentent cette caractéristique.

Comme toutes les réactions d'équilibre, les réactions de

« *permutation* » obéissent à la loi des masses et dépendent non seulement de la température, mais encore du PH du milieu: c'est ainsi qu'elles se trouvent d'autant plus inhibées que l'on s'éloigne davantage de la neutralité. On trouvera exposée plus loin l'application pratique de ces dernières données, lorsque nous envisagerons la technique des manipulations et les résultats que nous avons obtenus grâce à la méthode. Mais avant d'aller plus loin, nous voudrions signaler une difficulté à laquelle nous nous sommes heurtés en cours de route, difficulté qui a trait précisément à cette notion de concentration ionique des hydrolysats.

FOURCADE a démontré en effet dans sa thèse que l'addition préalable d'acide trichloracétique dans les conditions de la désalbumination de Moog, ou d'acide lutéophosphotungstique dans les conditions de la désalbumination de CRISTOL, était de nature à modifier les résultats de la permutation dans des proportions assez notables, dont il précise par ailleurs l'ordre de grandeur.

Ces constatations risquent évidemment de rendre un peu aléatoires les résultats des dosages effectués sur les permutations trichloracétique et phosphotungstique. Toutefois il nous est apparu possible de restreindre au maximum la cause d'erreur en appliquant des coefficients de correction appropriés. Moyennant quoi, nous avons pensé que le principe de la méthode pouvait être maintenu.

II. — TECHNIQUE UTILISÉE AU COURS DE NOS RECHERCHES

Pour chacune des tumeurs étudiées nous avons procédé à la série des manipulations que nous allons maintenant décrire, en confrontant pas à pas les résultats obtenus sur la

néoformation elle-même et sur la partie du tissu d'origine demeurée saine.

1° *Obtention d'une protéine pure à partir des tissus frais.*

La technique employée a déjà été exposée au chapitre précédent (épuisement par l'alcool à 95° dans un appareil de KUMAGAWA pour extraire les lipides, puis traitement par l'acide acétique à 1 pour 100 pour éliminer les glucides).

2° *Dosage de l'azote total sur un échantillon des protéines recueillies.*

Ce dosage d'azote — ainsi d'ailleurs que tous ceux qui vont suivre — a été réalisé suivant la méthode de PREGL, application à l'échelle microanalytique de la méthode générale de KJELDHAL.

En pratique, nous avons agi comme suit: les prises d'essai utilisées ont été uniformément de 50 mgr de poudre de protéines. Le prélèvement mis dans un microkjeldhal de modèle courant est additionné d'un centimètre cube de SO^4H^2 pur et d'une pincée d'un mélange au *séléniate de cuivre* (note 1). Nous avons donné la préférence à ce dernier catalyseur, celui-ci paraissant de nature à assurer les destructions les plus complètes dans le minimum de temps.

L'opération étant achevée, on verse le produit de destruction dans un ballon jaugé de 50 cm³ et on complète avec de l'eau distillée jusqu'au trait (*solution 1*).

Le dosage de l'azote total est ensuite effectué sur des prises de 10 cm³ au moyen de l'appareil de PARNAS et de

NOTE 1. — Formule du mélange catalyseur utilisé:

SeO^4Cu , 5H ² O	1 partie
SO^4K^2	30 parties

WAGNER suivant la technique habituelle. A cet égard, nous nous bornerons à mentionner que nous nous sommes servis pour les titrages de solutions colorées N/70, préparées suivant le procédé indiqué par FOURCADE ((103).

Le résultat ainsi obtenu, exprimé en azote et rapporté à 100 mgr. de la poudre de protéine examinée, sera figuré dans les calculs ultérieurs par la notation « N^1 ».

3° Hydrolyse totale de la protéine par l'acide chlorhydrique.

Tout comme pour la mesure de « l'indice formol », l'hydrolyse a été réalisée en soumettant à l'action de la chaleur sous pression des échantillons de la protéine finement pulvérisée et additionnée de 20 fois son poids d'acide chlorhydrique à 20 pour 100.

Les prises d'essai ont été de 200 à 400 mgrs suivant la quantité de poudre disponible.

L'expérience nous a démontré que la dislocation de la molécule protéique pouvait être considérée comme complète après un séjour de 3 heures à l'autoclave à la température de 140° (deux périodes de 1 h. 30).

Au cours de recherches préalables, nous avons pu vérifier en effet, au moyen de la réaction du biuret et de « l'indice-formol », que l'hydrolyse totale est effectivement obtenue dans ces conditions. Par contre, à des températures moindres et pour des durées plus courtes d'exposition à la chaleur, l'étude de la courbe établie sur l'index de SÖRENSEN montre qu'on se trouve encore dans la portion ascendante du tracé, tandis que la réaction du biuret demeurant positive confirme la persistance de liaisons peptidiques non dissociées. D'un autre côté, la prolongation de la durée d'hydrolyse ne nous semble pas davantage à conseiller. Si dans quelques cas on peut observer une très légère ascension de la courbe

après ce délai de 3 heures, le fait est rare, et la plupart du temps on constate à partir de ce moment l'établissement d'un plateau fixe, témoin de la désintégration complète de l'édifice protéique. Dès lors la poursuite de l'opération s'avère inutile. Bien plus, il nous est arrivé parfois d'enregistrer vers 4 h. 30 (ou au delà) une légère chute des tracés, phénomène apparemment paradoxal qui nous a paru pouvoir s'expliquer par la production d'*amides* sous l'influence de la surchauffe (l'asparagine donne une coloration bleue légèrement violette avec le sulfate de cuivre en milieu basique). Ce fait, que nous avons tout d'abord remarqué lors de nos premiers essais sur des poudres quelconques (protéine de chien dépancréaté, gélatine etc...), s'est vérifié semble-t-il à nouveau à deux reprises dans nos expériences sur les tumeurs, ainsi qu'on pourra s'en rendre compte en examinant les tracés du chapitre précédent (tableaux n° II et figures 1 et 2).

En fin de compte, le choix du délai de 3 heures pour l'exposition des poudres à l'autoclave à 140° en vue d'une hydrolyse totale, nous a paru être le meilleur, et nous sommes en cela pleinement d'accord avec Madame A. ROCHE (93) qui déjà, dans sa thèse, était parvenue à des conclusions identiques. Par ailleurs, comme le fait observer cet auteur, cette méthode a encore pour elle sa facilité de réalisation. Elle mérite notamment d'être préférée à l'hydrolyse de 8 h. à 120°, proposée par DAKIN, qui ne présente aucun avantage appréciable et demande plus de temps, ainsi qu'à l'hydrolyse de 1 h. 30 à 150° préconisée par HENRIQUEZ et GJALBAECK et par VAN SLYKE, laquelle ne peut être obtenue avec les appareils de modèle courant.

Avant de terminer ce paragraphe nous croyons utile de répondre par avance au reproche qui peut nous être fait d'avoir recouru, pour libérer les acides aminés des com-

plexes où ils sont engagés, à une méthode aussi brutale que celle de l'hydrolyse à l'autoclave.

Effectivement, ce procédé place les protéines dans des conditions extrêmement anormales de température, d'acidité et de pression. Et ceci a des conséquences notables puisque, d'une part il se forme inévitablement des substances de déchet représentées par l'azote humique et l'ammoniaque, et que d'autre part on assiste, comme nous le verrons par la suite, à une véritable destruction de certains amino-acides.

En réalité ces inconvénients n'ont ici que peu d'importance. En effet les acides diaminés (que nous nous proposons de doser séparément dans un chapitre ultérieur) ne semblent que très faiblement touchés par cette méthode. Quant aux mono-aminoacides plus vulnérables, leur estimation individuelle n'est pas envisagée pour le moment, cependant que leur taux global peut toujours être évalué par le simple calcul de la différence:

$$N \text{ monoaminé} = N \text{ total} - N \text{ diaminé}$$

4° *Elimination de l'acide chlorhydrique.*

Le contenu des tubes de Pyrex retirés après hydrolyse de l'autoclave est très acide, en raison de la présence de l'HCl additionné à la poudre avant cette opération. Comme cet excès d'acide chlorhydrique gênerait considérablement les recherches ultérieures, et même fausserait les résultats, ainsi que nous aurons l'occasion de le démontrer plus loin, il convient avant toute chose d'en assurer l'éviction aussi absolue que possible. A cet effet, il suffit de transvaser l'hydrolysat dans une capsule de Pyrex et de l'évaporer au bain-marie. Le résidu sec brun-noirâtre qui reste au fond du récipient est alors repris par quelques centimètres cubes d'eau distillée et évaporé à l'étuve de 60° à deux reprises. Telle

est la technique qui a été employée par Mme A. ROCHE avec des résultats très satisfaisants. Il nous a paru utile toutefois de la compléter par une évaporation supplémentaire pratiquée dans le vide. A ce moment on peut estimer que la totalité de l'HCl a été pratiquement entraînée. En effet, alors que selon la technique de Mme ROCHE il persiste encore dans le résidu sec une acidité chlorhydrique de l'ordre de 1 à 2 %, nous avons constaté qu'avec la précaution complémentaire que nous avons proposée, cette acidité tombe constamment au-dessous de 0,5 pour 100.

5° *Élimination des matières humiques.*

Nous savons déjà que cette extraction peut être réalisée grâce à *l'action à froid du noir animal*. L'enduit demeuré dans la capsule après l'opération précédente est redissout dans un peu d'eau distillée, et délayé avec du noir animal (1 gramme environ). On filtre, et le filtrat complété par les eaux de lavage est porté à 50 centimètres cubes (*solution n° 2*). Normalement le liquide recueilli doit être parfaitement incolore. Un dosage d'azote y sera effectué sur des prises de 10 centimètres cubes et le taux sera rapporté à 100 mgr de protéines (détermination de « N² »).

6° *Chasse de l'ammoniaque.*

On l'obtient par simple entraînement sous l'action d'un courant d'air. Ce procédé assure en effet l'éviction complète de NH³ dissout sans porter atteinte aux autres composés azotés. Mais l'opération ne peut s'effectuer dans de bonnes conditions qu'en milieu neutre ou faiblement alcalin et à une température aux environs de 30°. Par ailleurs, il faut que l'air qui traverse la solution soit totalement exempt de toute trace d'ammoniaque. Pour satisfaire à toutes ces

exigences nous avons adopté un dispositif qui comporte successivement les éléments suivants :

1° Un flacon-laveur renfermant de l'acide sulfurique et dont la mission est de purifier l'air dès son entrée dans l'appareil. En barbotant dans ce récipient il s'assèche en effet et se débarrasse des moindres traces de NH_3 qui pourraient le polluer;

2° Un ballon de 200 cm^3 destiné à recevoir la solution de protéines étudiée et plongeant dans un bain-marie électrique susceptible d'être réglé automatiquement à la température désirée (30° pour l'expérience envisagée);

3° Un Erlénmeyer contenant de l'eau additionnée de quelques centimètres cubes de réactif de NESSLER dans le but de détecter au passage les moindres quantités d'ammoniaque se dégageant du ballon, par un virage du jaune clair vers une coloration brunâtre plus ou moins foncée.

4° Un récipient de sureté branché sur une trompe à eau, laquelle réalise l'appel d'air nécessaire au fonctionnement du système.

Bien entendu tous ces appareils sont bien bouchés et reliés entre eux par des tubulures munies d'ajutages parfaitement hermétiques.

Le montage ayant été effectué suivant les données qui viennent d'être formulées, il suffit d'introduire dans le ballon au moment de l'expérience la solution protéique, et en l'espèce 25 cm^3 du filtrat n° 2, préalablement neutralisés par addition d'une quantité convenable de CO_3Na^2 , en présence de quelques gouttes de phénolphtaléïne.

On veillera au cours de cette opération à éviter l'addition d'un trop grand excès de soude, car celle-ci, réagissant sur l' HCl qui aura pu échapper à l'évaporation, donnera lieu à la formation d'une certaine quantité de NaCl susceptible de gêner ultérieurement les réactions de permutation.

Dès lors il suffit de régler le thermostat, et lorsque le thermomètre indique que l'on a obtenu une température très régulière au chiffre voulu, on fait passer le courant d'air destiné à assurer la chasse d'ammoniaque, en ouvrant la trompe à eau. On voit bientôt le réactif de NESSLER se colorer de plus en plus nettement en brun jusqu'à un maximum qui indique le terme de l'opération. A ce moment le liquide qui s'est souvent suralcalinisé par suite du départ de NH_4 est ramené à la neutralité. On le transvase alors avec les eaux de lavage dans un flacon jaugé à 50 cc et on complète à niveau (*solution n° 3*). Dix centimètres cubes de cette solution sont réservées à un dosage d'azote par l'appareil de PARNAS (N^3), tandis que le reste est destiné aux manipulations qui vont suivre.

7° Précipitation par l'acide trichloracétique.

Elle est obtenue en traitant un prélèvement de la solution n° 3 par un volume égal d'acide trichloracétique dilué à 20 %. Ce dernier taux a été choisi parce que c'est lui qui paraît réaliser la désalbumination de MOOG dans les meilleures conditions. Aux concentrations plus faibles il semble en effet que la désalbumination soit insuffisante, alors qu'aux concentrations plus élevées les résultats se trouvent faussés par l'apparition d'un début d'hydrolyse des protéides sous l'action du défécant hyperacide.

En pratique, nous opérons ainsi = à 25 cm^3 prélevés sur la solution n° 3 on ajoute 25 cm^3 d'acide trichloracétique à 20 %. On agite et on centrifuge pendant 5 minutes à 5000 tours pour rassembler le précipité si celui-ci vient à se former. On recueille le liquide clair surnageant (*solution n° 4*) et on dose l'azote (N^4) sur une partie aliquote (10 cm^3).

8° *Précipitation par l'acide phosphotungstique.*

Elle peut être réalisée de la façon suivante à partir de la solution n° 3:

Dans un tube à essai — ou mieux, dans un tube à centrifuger — on introduit dans l'ordre et en agitant continuellement:

Prélèvement de la solution étudiée	10 cm ³
Solution de lutéophosphotungstate de sodium à 10 %.	10 cm ³
Eau distillée	20 cm ³
Acide sulfurique 2/3 N	10 cm ³

Le mélange étant homogène, on attend dix minutes et on centrifuge comme dans le cas précédent. Sur 10 cm³ du défécant (*solution* n° 5) on fait une destruction et un dosage d'azote suivant la méthode de PREGL (N⁵).

On trouvera dans l'appendice de la thèse de FOURCADE (loc. cit) un mode de préparation détaillé du lutéophosphotungstate de soude, lequel répond à la formule: $P^2O^5, 18 WO^3, 3 ONa^+ + 22 H^+ O$.

9° *Les réactions de permutation.*

Nous avons déjà indiqué le but que nous nous sommes proposés d'atteindre en recourant aux réactions de permutation.

La technique que nous avons utilisée a été directement inspirée de celle qui a été définie par J. FOURCADE. Elle consiste à filtrer sur une certaine quantité de permutite les solutions 4 et 5 obtenues après centrifugation des précipités trichloracétique et phosphotungstique.

Comme les conditions de p H et de température, la dose d'azote mise en expérience et la quantité de permutite em-

ployée sont autant de facteurs qui interviennent dans la réaction, ainsi d'ailleurs que la vitesse même de la filtration, nous avons adopté le mode opératoire suivant, destiné à assurer une adsorption optima des diaminoacides et de leurs polypeptides par le réactif fixateur :

1° On prélève 25 cm³ du filtrat trichloracétique et, après une neutralisation aussi exacte que possible en présence d'un indicateur coloré, on complète à 50 cc avec de l'eau distillée. On réalise ainsi une prise d'essai obéissant à la condition requise de renfermer moins de 20 milligrammes d'azote au total.

2° On pèse par ailleurs 5 grammes d'une permutite à grains fins, vérifiée exempte d'ammoniaque (note 1) et on les dispose dans un entonnoir filtrant d'IENA n° 15 a G I, particulièrement adapté à cette manipulation.

3° Il suffit alors de procéder à la filtration elle-même qui doit être menée à la température ordinaire (18 à 20°), et réglée à la vitesse de 45 à 50 gouttes par minutes au moyen d'une trompe à eau. On obtient ainsi un liquide clair et limpide (*solution* n° 6) à partir du défécât (ou filtrat) trichloracétique.

En opérant d'une manière absolument identique sur le défécât lutéophosphotungstique, on recueille un second liquide de permutation (*solution* n° 7).

Il suffit pour terminer de pratiquer sur l'une ou l'autre de ces deux solutions un dosage d'azote suivant la méthode habituelle (détermination de N6 et N7).

Après chaque manipulation la permutite peut être facilement « régénérée » par des lavages successifs avec de l'eau distillée, une solution saturée de NaCl, une solution d'acide

NOTE 1. — Permutite de la « Permutit Company », 330 w., 42° Rue à New-York (permutite « prepared according to Folin »).

acétique à 2 %, et à nouveau de l'eau distillée (à deux reprises). On sèche ensuite à l'air libre. Ce dernier temps achevé, le produit peut être aussitôt remis en usage.

Ceci dit, et afin de rendre toutes les notions que nous venons d'exposer plus faciles à interpréter, nous avons essayé de les résumer dans le tableau ci-dessous :

TABLEAU N° III

Procédé de précipitation ou de défécation utilisé	Il reste sur le filtre	Il passe en solution
Traitement par le noir animal.	Matières humiques.	L'azote total moins l'azote humique.
Précipitation trichloracétique.	Azote protéique.	Azote non protéique (N polypeptidique + N ac. aminés)
Précipitation phosphotungstique.	Azote polypeptidique	Azote des acides aminés.
Permutation du filtrat trichloracétique.	Azote des ac. diamminés et des polypeptides d'acides diamminés (t r è s schématique, voir chapitre V).	Azote des ac. monoaminés et des polypeptides de ces acides (id.).
Permutation du filtrat lutéophosphotungstique.	Azote des ac. diamminés.	Azote des ac. monoaminés.

Si maintenant l'on désigne respectivement par N¹, N², N³, etc. les quantités d'azote contenues dans les solutions 1, 2, 3, etc. et dosées par la méthode de PREGL, on voit combien il est aisé d'en déduire le taux des divers constituants de la poudre étudiée, les chiffres étant toujours rapportés à une prise d'essai de 100 mgr.

- N¹ = azote total;
N¹ — N² = azote humique;
N² — N³ = azote ammoniacal;
N³ — N⁴ = azote protéique;
N⁴ = azote polypeptidique + azote aminé;
N⁴ — N⁵ = azote polypeptidique (« double azote » de
CRISTOL;
N⁵ = azote des amino-acides;
N⁴ — N⁶ = azote des acides diaminés et de leurs poly-
peptides;
N⁶ = azote des acides monoaminés et de leurs poly-
peptides;
N⁵ — N⁷ = azote des acides diaminés;
N⁷ = azote des acides monoaminés.

On peut parvenir ainsi à réaliser une véritable « *dissection biologique* » des groupements azotés contenus dans le protide examiné et c'est cette opération sélective que nous avons essayé de pratiquer sur les tumeurs au cours de nos expériences.

Modificatif apporté au protocole précédent à la suite des premières expériences. — Simplification de la méthode.

Si le protocole qui vient d'être décrit avait l'inconvénient d'être assez complexe et d'aboutir à des taux de dilution très élevés au moment des derniers dosages, au moins présentait-il l'avantage de permettre une dissociation minutieuse des divers complexes azotés inclus dans la molécule protéique.

Nous n'avons malheureusement pas pu pousser cette discrimination aussi loin que nous l'eussions désiré, deux chaînons de cette maille que nous venons de dérouler ayant

continuellement fait défaut au cours de nos essais. En effet, sans vouloir trop anticiper sur le chapitre réservé à l'exposé des résultats, nous pouvons dire d'ores et déjà que toutes nos tentatives faites en vue d'obtenir des précipités par les acides trichloracétique et phosphotungstique ont été vouées à l'échec. Cette constatation démontre tout simplement que l'hydrolyse acide pratiquée dans les conditions que nous venons d'indiquer était suffisamment poussée pour avoir amené en chemin la destruction des chaînes polypeptidiques. Il s'agissait donc bien là d'une hydrolyse totale, c'est-à-dire d'une résolution complète de la molécule protéique en ses constituants élémentaires. Aussi bien la négativité de la réaction du biuret venait-elle encore confirmer cette conclusion.

Dans de telles conditions, nous avons été amenés à modifier notre mode opératoire, en ce sens que nous avons procédé directement à la permutation après la chasse d'ammoniaque, nous réservant toutefois de vérifier à chaque fois, sur des prélèvements, l'absence de toute précipitation trichloracétique et phosphotungstique.

En conséquence, le tableau n° 3 se trouve singulièrement simplifié dans ses données (note 1) et les applications que l'on peut en tirer se résument dès lors aux quelques propositions suivantes (en désignant par N^{IV} le taux d'azote dosé dans l'unique liquide de permutation):

NOTE 1. — En partant de la solution n° 3, obtenue après élimination des matières humiques et de l'ammoniaque dans des conditions absolument identiques à celles décrites plus haut dans le protocole expérimental complet, il suffit d'opérer une permutation sur 25 cm³ de ce liquide incolore parfaitement neutralisé. On pratique ensuite un dosage d'azote sur 10 cm³ de ce filtrat préalablement complété à 50 cm³ avec de l'eau distillée.

N^1 = azote total;

$N^1 - N^2$ = azote humique;

$N^2 - N^3$ = azote ammoniacal;

$N^3 - N^{IV}$ = azote des acides diaminés et de leurs polypeptides de faible condensation;

N^{IV} = azote des acides monoaminés et de leurs polypeptides de faible condensation, les polypeptides de haute condensation ayant complètement disparu sous l'action énergique de la chaleur prolongée sous pression.

C'est sur ces dernières bases que nous allons maintenant exposer les résultats de nos recherches.

III. — RÉSULTATS OBTENUS

Notre expérimentation a porté sur vingt tumeurs correspondant à des types anatomo-cliniques aussi variés que possible. Le groupe des néoformations malignes est représenté par un sarcome fuso-cellulaire, un cancer de l'intestin, trois épithéliomas cylindriques du rectum, deux épithéliomas du sein, deux tumeurs de l'ovaire, deux épithéliomas malpighiens du col et deux épithéliomas cylindriques du corps de l'utérus. De son côté, le groupe des néoformations bénignes comporte: quatre leiomyomes utérins, un adénome prostatique et une môle hydatiforme. A chaque fois la nature histo-pathologique exacte du processus a été vérifiée par un examen microscopique (note 2). En outre, nous avons procédé à l'hydrolyse d'une albumine de BENCE-JONES préparée dans le laboratoire de M. le Professeur CRISTOL.

NOTE 2. — Nous adressons tous nos remerciements à MM. Harant et Guibert qui ont bien voulu pratiquer l'examen anatomo-pathologique des pièces que nous avons utilisées.

Dans tous les cas — sauf un seul: celui de l'adénome prostatique — les recherches ont été effectuées conjointement sur le tissu sain d'origine. Toutefois, en ce qui concerne l'albumine de BENCE-JONES, l'élément normal comparatif est représenté par un sérum-albumine spécialement isolée en vue de cette étude.

On trouvera sur les deux tableaux reproduits ci-après (IV et V) les résultats numériques de nos dosages. Dans l'un d'eux, les chiffres correspondent directement aux prises d'essai de 100 mgr. effectuées sur les poudres de protéines. Dans l'autre, les taux d'azote détachés après chaque opération de l'édifice protéique ont été évalués en p. 100 d'azote total. Afin de rendre les phénomènes ainsi objectivés plus nets et plus faciles à identifier, nous avons cru utile, dans les pages qui suivent, de les exprimer sous la forme de quelques schémas (fig. 3, 4 et 5).

Les données ainsi recueillies méritent maintenant quelques commentaires.

1° *Azote total, azote humique et azote ammoniacal.*

En ce qui concerne le taux de l'*azote total* contenu dans la poudre étudiée, les valeurs obtenues montrent qu'il représente entre 15 et 16 p. 100 du poids de cette poudre, tout au moins dans la forte majorité de 80 % des cas. Dans les autres cas, ce taux est encore plus faible, mais demeure toujours supérieur à 14 p. 100. Nous sommes donc constamment au-dessous du chiffre théorique classique de 16 %. Néanmoins il faut admettre que ces écarts sont relativement faibles, et qu'ils ne sauraient justifier le rejet de la méthode d'extraction que nous avons cru devoir adopter.

Si, nous plaçant à un autre point de vue, nous comparons maintenant les valeurs de l'azote total dans la partie saine

et dans la tumeur, nous constatons que celles-ci sont très voisines. Il n'existe en effet entre elles que de très légères différences, mais, fait remarquable, celles-ci jouent dans la plupart des cas au détriment de la partie tumorale.

Si l'on considère maintenant la question de l'*azote humique*, on s'aperçoit que celui-ci s'inscrit d'ordinaire dans la proportion de 2 à 4 p. 100 pour la protéine entière, et de 14 à 25 p. 100 environ pour l'azote total (avec une moyenne de 19).

Quant à l'*azote ammoniacal*, on voit également qu'il s'intègre dans la règle pour une valeur comprise entre 0,40 et 1,40 p. 100 dans la protéine étudiée et comprise entre 2,5 et 7 p. 100 dans l'azote total (avec une moyenne de 4,75).

Ces chiffres sont quelque peu différents de ceux qui ont été obtenus par les différents auteurs, et notamment par OSBORNE et JONES (97), DRUMOND (106) et Mme A. ROCHE (93) pour l'azote humique, et pour l'azote ammoniacal par cette même biologiste, en dépit de l'identité de technique suivie par cette dernière.

Dans l'ensemble, on rencontre des taux d'azote humique plus faibles (1 à 3 % environ) et, par contre, des taux d'N ammoniacal plus élevés (8 à 10 % et davantage) lorsqu'on consulte leurs travaux.

Ces écarts peuvent peut-être s'expliquer en partie par la brutalité de l'hydrolyse acide à l'autoclave telle que nous l'avons réalisée.

En ce qui concerne maintenant les valeurs relatives de ces éléments dans la tumeur et dans le tissu normal, on constate qu'elles sont très variables d'une expérience à l'autre et qu'elles ne paraissent obéir à aucune règle d'ensemble.

PROPORTIONS RELATIVES DES ACIDES DIAMINÉS
ET DES ACIDES MONOAMINÉS DANS LES TUMEURS
ET DANS LES TISSUS SAINS D'ORIGINE

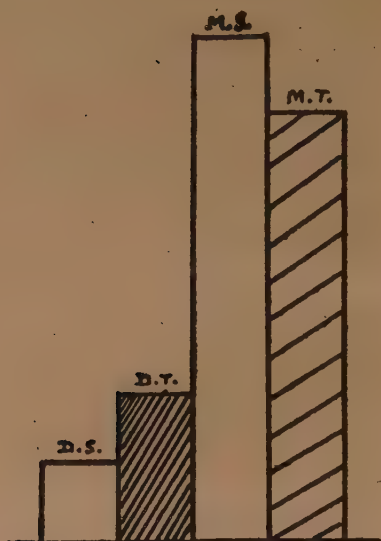


FIG. 3. — Cancer de l'intestin (tumeur n° 5).

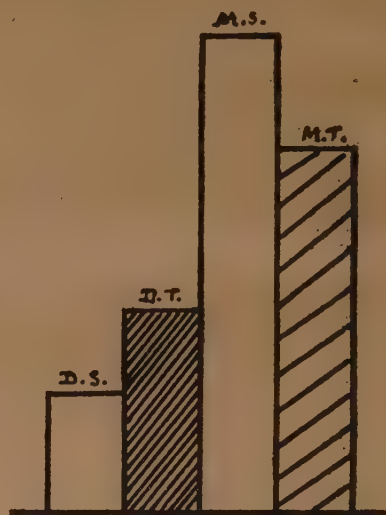


FIG. 5. — Léiomyome utérin (tumeur n° 15).



FIG. 4. — Myxo-sarcome de l'ovaire (tumeur n° 8).

D. S. = acides diaminés du tissu sain.
D. T. = acides diaminés de la tumeur.
M. S. = acides monoaminés du tissu sain.
M. T. = acides monoaminés de la tumeur.

Echelle: 1 cm. correspond à 10 gr. d'azote (pour 100 gr. d'acide total).

2° Azote des acides aminés.

D'après nos résultats, le taux de l'azote global des amino-acides oscille entre 70 et 80 p. 100 de l'azote total des protéines étudiées. Il représente en moyenne 76 % de celui-ci, soit, grosso modo, les trois-quarts.

Les valeurs obtenues sont de même ordre dans la partie saine et dans la partie tumorale, et la correspondance des dosages demeure assez frappante. Les écarts notés sont relativement très faibles et n'approchent 10 % que dans un cas que l'on peut considérer comme aberrant. Si l'on fait ici encore le calcul des moyennes, on trouve 76,40 pour cent pour le tissu normal et 75,80 pour cent pour le tissu pathologique, soit dans l'ensemble un taux légèrement plus faible pour ce dernier. Ces résultats sont donc en plein accord avec ceux déjà obtenus par la méthode de l'indice-formol. Nous ne saurions toutefois en tirer une conclusion quelconque, le sens des variations s'étant révélé par trop inconstant pour chacun des types de tumeurs considérés.

Si l'on confronte maintenant nos résultats avec ceux qui ont été publiés par les auteurs précédemment cités, on s'aperçoit que nos taux sont nettement moins élevés que les leurs. Au cours des recherches auxquelles nous faisons allusion — et qui n'ont d'ailleurs porté exclusivement que sur des protéines musculaires normales, humaines ou animales — l'azote contenu dans les acides aminés atteint à peu près constamment les 90 p. 100 de l'azote total et dépasse même souvent cette dernière valeur. De tels faits ne doivent d'ailleurs pas nous étonner: ils sont liés à la formation très importante de matières humiques au cours de nos expériences personnelles d'hydrolyse, et en constituent en quelque sorte la contre-partie.

Tout particulièrement riche en enseignements est l'étude

comparative, que nous allons maintenant exposer, des taux d'*acides diaminés* d'une part et *monoaminés* d'autre part, libérés des protéines sous l'action de la chaleur sous pression. Ici une distinction doit être faite immédiatement entre les tumeurs bénignes et les tumeurs malignes.

Si on examine tout d'abord les résultats obtenus par l'analyse des parties saines, on s'aperçoit que le taux des acides diaminés oscille entre 15 et 25 % et celui des acides monoaminés entre 45 et 67 % de l'azote total (sauf quelques rares cas aberrants), avec des moyennes de 18 pour les premiers et de 57 pour les seconds.

Si nous tenons compte du décalage des chiffres dû à une formation importante d'azote humique au cours de nos expériences, nos résultats sont tout à fait en accord avec ceux qui sont rapportés par les différents auteurs et notamment par Mme ROCHE dans sa thèse (loc. cit., tableau n° XXVII, p. 159 et aussi p. 139).

La méthode des permutations que nous avons adoptée dans nos recherches permet donc d'opérer parmi les acides aminés une sélection de même ordre que celle que l'on obtient par les autres procédés, et notamment par la précipitation phosphotungstique employée couramment jusqu'ici. Nous aurons d'ailleurs l'occasion de revenir ultérieurement sur cette importante question et d'insister sur les avantages que présente à certains égards l'emploi de la permutoite (ch. V, p. 142).

Reste maintenant à rapprocher de ces données celles qui ont été enregistrées lors de la dégradation des protéines tumorales et c'est ici précisément que la distinction entre les néoformations bénignes et malignes apparaît comme pleine d'intérêt.

En examinant en effet la partie des tableaux qui se rapporte aux 13 tumeurs malignes que nous avons analysées,

on s'aperçoit que, d'une manière constante, il existe une *augmentation relative du taux des acides diaminés dans le tissu pathologique*, cet excès se trouvant compensé par une diminution corrélative de la proportion des acides monoaminés.

Si on calcule comme précédemment la moyenne des valeurs recueillies, on obtient pour les diamino-acides 21 et pour les monoaminoacides 54 environ pour cent de l'azote total (au lieu de 17 et 59 respectivement trouvés pour les tissus sains d'origine), en comprenant dans cette statistique l'albumine de BENCE-JONES qui paraît se comporter à cet égard comme une protéine d'essence maligne.

De tels résultats ne sauraient d'ailleurs nous surprendre. Ils viennent à l'appui des constatations déjà faites par un certain nombre d'auteurs, constatations qui ont déjà été rapportées au cours d'un chapitre précédent. Nous rappelons à ce sujet, sans y insister plus longuement, les travaux publiés par OSBORNE et MENDEL (1912), KOCHER (1915) puis ROUS (1925), lesquels ont abouti à des conclusions qui ont été reprises ensuite par M. ROBIN (1926). *On sait que ce dernier n'a pas hésité à faire de cette richesse en bases hexoniques une caractéristique chimique du tissu cancéreux*, estimant même que cette teneur élevée en facteurs de croissance de la cellule néoplasique constituait la condition essentielle de son développement rapide et de sa multiplication.

En réalité, si les faits que nous avons observés sont en plein accord avec les travaux antérieurs en ce qui concerne les tumeurs malignes, ils se montrent par contre en opposition avec ceux-ci pour ce qui a trait aux *tumeurs bénignes*. Si on laisse de côté l'adénome prostatique, pour ne considérer que les 5 pièces anatomiques de cette catégorie comportant du tissu sain, l'analyse nous a permis, en effet d'en-

registrer dans la néo-formation une *diminution du taux des acides diaminés* par rapport au tissu normal, avec comme corollaire une élévation du pourcentage correspondant des mono-amino-acides. Tandis que ces derniers occupent dans l'azote total une proportion de 63 pour 100 (au lieu de 58 valeur moyenne normale), les bases hexoniques y participent seulement pour 13 pour cent (au lieu de 16,50 pour cent).

Ainsi nous aboutissons sur ce point à une notion qui, à notre connaissance, n'a jamais été signalée au cours des expériences pratiquées jusqu'à ce jour. Elle permet de penser que le *métabolisme azoté de la cellule pathologique n'est pas exactement le même dans les tumeurs bénignes et dans les tumeurs malignes, puisque nous assistons pour les unes et pour les autres à des déviations constantes et en sens opposé.*

Afin d'extérioriser plus nettement le sens de ces variations, nous avons calculé pour chacune des tumeurs la valeur du rapport acides diaminés et montré que celui-ci

acides monoaminés

se trouve toujours inférieur à la normale (0,30 en moyenne) dans les processus bénins (0,25 en moyenne, en comptant l'adénome prostatique) et, au contraire, supérieur dans les processus malins (0,40 chiffre moyen).

C'est dans le même but que nous avons également exprimé sous forme de graphiques (fig. 3, 4 et 5) les données numériques figurant dans les tableaux n° IV et V.

On remarquera que le cas des tumeurs n° 16 et 17 est tout particulièrement éloquent. Il a, du point de vue qui nous occupe, une valeur en quelque sorte expérimentale. Il s'agissait d'un utérus porteur simultanément d'un épithélioma atypique très proliférant du corps et de plusieurs nodules léiomyomateux. Or l'analyse chimique nous a permis de constater de manière très frappante le contraste qui exis-

te entre tumeur bénigne et tumeur maligne en ce qui concerne la répartition des acides aminés dans les divers tissus intéressés, et nous a apporté la confirmation de nos résultats précédents.

Devons-nous aller plus loin dans la voie des déductions et émettre l'hypothèse d'une différence profonde dans la texture de la molécule protéique selon qu'il s'agit d'un processus bénin ou malin ?

Nous croyons qu'il convient de se montrer très prudent dans ce domaine, les divergences observées au cours de nos dosages portant au fond sur des quantités plutôt minimales, encore qu'ils soient parfaitement concordants. Ce fait, rapproché des courbes obtenues après hydrolyse en vue de la mesure de l'indice-formol, nous incite tout au contraire à penser que l'on se trouve là en présence de *phénomènes contingents* qui peuvent être interprétés aussi bien comme des effets que comme des causes, autrement dit, on peut les considérer tout autant comme des témoins d'un métabolisme dévié que comme les responsables de cette déviation. Dès lors, il nous apparaît comme infiniment probable que l'édifice protéique reste dans tous les cas absolument semblable à lui-même, *et qu'il n'existe pas à proprement parler de véritables protéines tumorales ayant la valeur d'individualités chimiques*. Nous aurons d'ailleurs l'occasion de revenir ultérieurement et à plusieurs reprises sur cette notion d'importance essentielle.

JUSTIFICATION DE LA MÉTHODE EMPLOYÉE

La technique que nous avons adoptée a été vérifiée à un double titre :

- a) Tout d'abord au point de vue de sa *fidélité*, en comparant les résultats obtenus au cours de deux séries d'expériences pratiquées sur la même poudre de protéines.
- b) Ensuite au point de vue de son *exactitude*, en appliquant les

TABLEAU IV

— RESULTAT DE L'HYDROLYSE COMPLETE DES PROTEINES TUMORALES PAR LES ACIDES FORTS
EVALUATION DES TAUX D'AZOTE P. 100 DE PROTEINES TOTALES

NATURE DES TUMEURS	AZOTE total		AZOTE humique		AZOTE ammoniacal		AZOTE ACIDES diamminés		AZOTE ACIDES monoaminés	
	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T
1. Sarcome fuso-cellulaire de la cuisse ...	15,30	15,16	3,75	3,50	0,80	0,65	2,35	2,66	8,40	8,35
2. Epithélioma cylindrique du rectum	15,45	14,91	2,20	2,36	0,65	0,55	2,75	3,00	9,85	9,00
3. Epithélioma cylindrique du rectum	15,22	15,10	2,47	3,20	0,65	0,55	2,80	3,10	9,30	8,25
4. Epithélioma cylindrique du rectum	15,10	15,00	3,80	3,96	0,80	0,64	3,00	3,34	7,50	7,06
5. Epithélioma cylindrique de l'intestin grêle	15,14	14,32	2,49	2,27	1,00	1,40	1,60	2,75	10,05	7,90
6. Epithélioma atypique du sein	15,64	15,68	2,06	2,20	0,20	0,10	2,88	2,88	10,50	10,50
7. Epithélioma atypique du sein	14,40	14,90	3,85	3,22	0,45	0,25	2,50	2,88	7,60	8,55
8. Myxo-sarcome de l'ovaire	15,85	14,20	2,30	2,85	1,10	0,75	2,50	3,80	9,95	6,80
9. Récidive de la tumeur précédente	15,85	14,05	2,30	2,90	1,10	1,00	2,50	3,70	9,95	6,45
10. Epithélioma malpighien spino-cellulaire du col utérin	15,72	15,44	2,62	2,44	0,60	0,40	3,10	3,40	9,40	9,20
11. Epithélioma malpighien métatypique du col utérin	15,10	14,90	2,27	3,50	0,50	0,55	2,85	3,20	9,47	7,65
12. Epithélioma atypique du corps utérin ...	15,10	15,05	2,27	2,55	0,38	0,40	2,50	3,10	9,95	9,00
13. Leiomyome utérin	15,10	15,00	3,10	3,25	0,70	0,50	1,80	1,15	9,50	10,10
14. Leiomyome utérin	15,40	15,36	3,275	3,03	1,475	0,83	1,85	1,10	8,80	10,40
15. Leiomyome utérin	15,20	14,94	3,15	2,87	0,85	0,82	3,10	2,30	8,10	8,95
16. Epithélioma atypique du corps utérin ... et	15,08	15,00	2,10	2,60	0,62	0,55	3,21	3,55	9,15	8,30
17. Leiomyome formé aux dépens du même utérus	15,08	15,12	2,10	1,90	0,62	0,80	3,21	2,82	9,15	9,60
18. Adénome prostatique	"	15,00	"	3,40	"	0,85	"	3,00	"	7,75
19. Albumine de Bence-Jones et sérum-albumine normale	15,60	15,90	4,65	3,25	0,75	1,85	3,24	3,88	6,96	6,92

NATURE DES TUMEURS

	AZOTE humique		AZOTE ammoniacal		AZOTE aminé total		AZOTE ACIDES diaminés		ACIDES ACIDES monoaminés		RAPPORT N diaminé N mono-aminé	
	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T
1. Sarcome fuso-cellulaire de la cuisse	24.49	23.08	5.23	4.29	70.28	72.63	15.38	17.54	54.90	55.07	0.28	0.31
2. Epithélioma cylindrique du rectum	14.28	15.83	4.20	3.69	81.52	80.48	17.78	20.12	63.74	60.36	0.27	0.33
3. Epithélioma cylindrique du rectum	16.22	21.19	4.28	3.65	79.50	75.16	18.40	20.53	61.10	54.63	0.30	0.37
4. Epithélioma cylindrique du rectum	25.16	26.40	5.30	4.26	69.54	69.34	19.87	22.27	49.69	47.07	0.40	0.47
5. Epithélioma cylindrique de l'intestin grêle	16.43	15.85	6.60	9.78	76.97	74.37	10.59	19.20	66.38	55.17	0.15	0.34
7. Epithélioma atypique du sein	13.17	14.03	1.28	0.63	85.53	85.33	18.41	18.37	67.14	66.96	0.274	0.274
6. Epithélioma atypique du sein	26.74	21.54	3.12	1.68	70.14	76.78	17.36	19.33	52.78	57.45	0.32	0.33
8. Myxo-sarcome de l'ovaire	14.52	20.07	6.94	5.28	78.54	74.65	15.77	26.76	62.77	47.89	0.25	0.57
9. Récidive de la tumeur précédente	14.52	20.64	6.94	7.12	78.54	72.24	15.77	26.34	62.77	45.90	0.25	0.57
40. Epithélioma malpighien spinoso-cellulaire du col utérin	16.68	15.80	3.80	2.60	79.42	81.60	19.72	22.02	59.70	59.58	0.33	0.37
11. Epithélioma malpighien métatypique du col utérin	15.03	23.48	3.32	3.75	81.65	72.77	18.88	21.45	62.77	51.32	0.30	0.41
12. Epithélioma atypique du corps utérin	15.03	16.95	2.52	2.65	82.45	80.40	16.55	20.60	65.90	59.80	0.25	0.34
13. Leiomyome utérin	20.53	21.66	4.63	3.34	74.84	75.00	11.92	7.66	62.92	67.34	0.18	0.11
14. Leiomyome utérin	21.26	19.73	9.58	5.41	69.16	74.86	12.01	7.16	57.15	67.70	0.21	0.12
15. Leiomyome utérin	20.70	19.22	5.60	5.48	73.68	75.30	20.40	15.40	53.28	59.90	0.38	0.25
16. Epithélioma atypique du corps utérin	13.92	17.34	4.12	3.66	81.96	79.00	21.28	23.66	60.68	55.34	0.35	0.42
17. Leiomyome formé aux dépens du même utérus	13.92	12.57	4.12	5.30	81.96	82.13	21.28	18.65	60.68	63.48	0.35	0.29
18. Adénome prostatique	"	22.66	"	5.67	"	71.67	"	20.00	"	51.67	"	0.38
19. Albumine de Bence-Jones et sérum - albumine normale	29.82	20.44	4.80	11.64	65.38	67.92	20.76	24.40	44.62	43.52	0.46	0.56
20. Môle hydatiforme et placenta normal	22.14	20.14	5.80	5.20	72.05	74.66	16.58	16.44	55.48	58.22	0.29	0.28

procédés décrits à des substances protéiques dont la composition a déjà été bien établie à la suite de travaux antérieurs.

1° *Fidélité de la méthode.*

Nous avons renouvelé, dans des conditions aussi rigoureusement identiques que possible, toute la série des manipulations destinées à réaliser l'hydrolyse totale des protéines, en nous adressant à deux des tumeurs précédemment étudiées, prises au hasard. Nous avons utilisé à cet effet les poudres protéiques issues des fibromes n° 14 et 15 ainsi que des parties saines attenantes. Dans les tableaux qui suivent, on trouve côte à côte les résultats des deux expériences successives (les chiffres obtenus au cours du premier dosage figurant entre parenthèse):

TABLEAU VI
a) *Leiomyome utérin n° 14*
(évaluations en % de protéines totales)

	Tissu sain	Tissu tumoral
Azote total	15,20 (15,40)	15,10 (15,36)
Azote humique et ammonia- cal	4,45 (4,75)	4,00 (3,86)
Azote ac. diamminés	2,25 (1,85)	1,40 (1,10)
Azote ac. monoaminés	8,50 (8,80)	9,70 (10,40)

b) *Leiomyome utérin n° 15*

	Tissu sain	Tissu tumoral
Azote total	15,20	14,94
Azote humique	3,30 (3,15)	2,99 (3,02)
Azote ammoniacal	0,75 (0,85)	0,70 (0,82)
Azote ac. diamminés	3,15 (3,10)	2,45 (2,30)
Azote ac. monoaminés	8,00 (8,10)	8,80 (8,80)

La lecture de ces tableaux permet de conclure à une fidélité suffisante de la méthode employée, les écarts entre les chiffres étant peu marqués, surtout en ce qui concerne le fibrome n° 15 où les deux bilans sont pratiquement superposables,

2° Exactitude de la méthode.

Nous nous sommes adressés pour vérifier nos résultats à deux protéides bien connus du point de vue chimique, à savoir: la *gélatine* et la *gliadine*, dont nous avons des échantillons purs à notre disposition dans le laboratoire.

Le dosage des acides diamminés effectué sur ces produits selon la méthode des permutations nous a donné les résultats suivants (taux évalués en azote):

gélatine = 4 mgr. 24 pour 100

gliadine = 1 mgr. 88 pour 100

Ces résultats sont assez conformes aux données classiques. Si l'on calcule notamment la teneur en azote de ces protéides d'après le tableau figurant à la page 441 du « Précis de chimie biologique médicale » de M. le Professeur CRISTOL (107), on constate que cet auteur adopte les valeurs moyennes suivantes:

gélatine = 4 mgr. 30

gliadine = 1 mgr. 71

Nous demeurons donc au cours de nos expériences dans les limites permises.

CHAPITRE III

COMPORTEMENT DES DIFFERENTS AMINO-ACIDES CONSIDERES ISOLEMENT VIS-A-VIS DE L'HYDROLYSE ACIDE A L'AUTOCLAVE

Nous avons vu, au cours du chapitre précédent, quelle est la composition chimique des protéïdes normaux et cancéreux, traités par la méthode de l'hydrolyse acide. Nous avons vérifié notamment qu'il était impossible d'éviter, par l'emploi de ce procédé, la formation de matières humiques et d'ammoniaque. Il nous a paru intéressant de poursuivre cette étude en recherchant la part *individuelle* que peuvent prendre les divers acides aminés dans la production de cet azote ammoniacal et humique (108). A cet effet, nous avons soumis à l'autoclave, dans les mêmes conditions que pour les protéïdes, un certain nombre d'amino-acides, à savoir :

A. — Des acides aminés aliphatiques :

- 1° Des monoacides-monoaminés = glycine, d-alanine, l-leucine;
- 2° Des diacides-monoaminés = acide d-glutamique;
- 3° Des monoacides-diaminés = ornithine, d-lysine;
- 4° Des acides aminés sulfurés = l-méthionine, l-cystine;
- 5° Un guanidino-monoacide = la l-arginine.

B. — Des acides aminés cycliques :

- 1° à noyau aromatique = l-tyrosine;
- 2° à noyau pyrrole = l-proline et l-oxyproline;
- 3° à noyau imidazole = l-histidine;
- 4° à noyau indole = l-tryptophane.

Pour chacun de ces acides, deux échantillons ont été prélevés : l'un, utilisé en solution aqueuse, a servi au dosage direct de l'azote total du mono-peptide, en même temps qu'à la vérification de la pureté du produit (note 1) ; l'autre, exposé à l'autoclave en milieu chlorhydrique dans les conditions habituelles, a permis l'évaluation de l'azote humique et ammoniacal formé, par comparaison avec le premier.

I. — PERTE EN AZOTE AMINÉ

L'azote aminé a été dosé par la méthode de SÖRENSEN dans les acides étudiés avant et après élimination des substances parasites précitées, formées au cours du passage à l'autoclave. La figure 6 montre que tous les amino-acides subissent, dans les conditions énoncées ci-dessus, une perte d'azote aminé qui varie de 3 pour 100 pour l'arginine à 100 pour 100 pour le tryptophane.

Sont peu attaquées: l'alanine, l'orthine, la lysine et la glycine (de 3 à 10 pour 100). Sont assez fortement désaminées: l'arginine, la leucine, la proline et l'oxyproline (de 18 à 23 pour 100). Sont fortement désaminés : l'histidine, l'acide glutamique, la méthionine et la cystine.

Nous signalons en passant que nous avons procédé, au

NOTE 1. — Nous avons employé pour la plupart de nos essais les produits biochimiques « Roche » (des laboratoires Hoffman-La Roche et Cie, 10, rue Crillon, Paris).

cours de ces recherches, à la *permutation* de nos solutions d'âmino-acides et que nous avons pu ainsi vérifier l'exactitude des résultats déjà obtenus par J. FOURCADE.

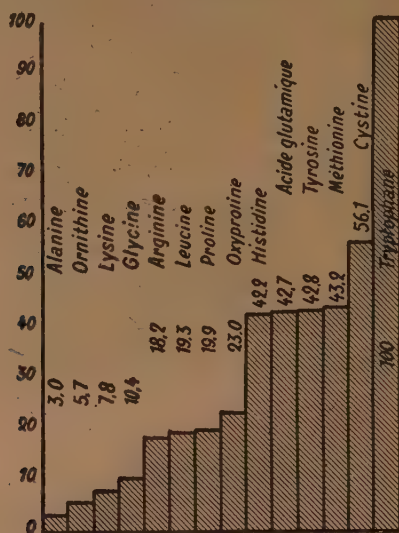


FIG. 6. — Pourcentage de l'azote aminé disparaissant dans les conditions de l'hydrolyse acide des protéines à l'autoclave appliquée à des solutions d'acides aminés purs.

II. — TRANSFORMATION EN AZOTE AMMONIACAL

La figure 7 montre qu'une partie seulement de l'azote aminé arraché à la molécule protéique se transforme en azote ammoniacal.

Ce dernier n'atteint des chiffres élevés — plus de 5 pour 100 — que pour quatre acides aminés seulement : l'alanine, l'acide glutamique, la méthionine et la cystine.

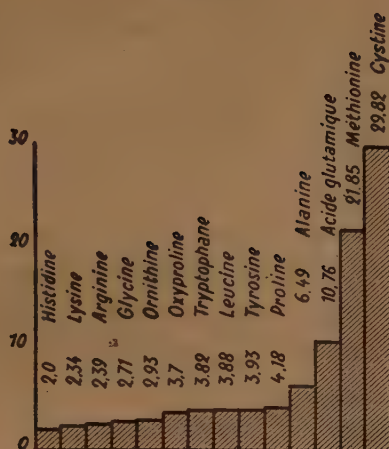


FIG. 7. — Pourcentage de l'azote total des acides aminés en solution pure transformé en azote ammoniacal dans les conditions de l'hydrolyse acide des protéines à l'autoclave.

III. — TRANSFORMATION EN AZOTE HUMIQUE

Dans la figure 8, on trouve les pourcentages d'azote total transformé en azote humique insoluble.

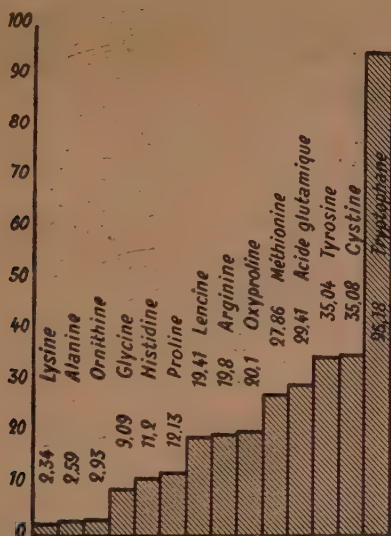


FIG. 8. — Pourcentage de l'azote total des acides aminés en solution pure transformé en azote humique dans les conditions de l'hydrolyse acide des protéines à l'autoclave.

Ici encore on peut remarquer que tous les amino-acides varient quant à leur pouvoir générateur d'azote humique.

En donnent peu (2 à 3 pour 100) : la lysine, l'alanine et l'ornithine. Un taux un peu plus élevé (9 à 12 pour 100) est atteint avec la glycine, l'histidine et la proline. Ce taux s'élève encore (à 19 et 20 pour 100) avec la leucine, l'arginine et l'oxyproline. Certains acides donnent beaucoup d'azote humique (de 29 à 35 pour 100), ce sont : la méthionine, l'acide glutamique, la tyrosine et la cystine. Enfin le tryptophane se transforme à peu près intégralement en matières humiques.

Si nos résultats sont en accord dans l'ensemble avec tous les travaux antérieurs en ce qui concerne le tryptophane, il ressort néanmoins de nos expériences que l'hydrolyse acide, telle que nous l'avons pratiquée, aboutit à une transformation complète — ou à peu près complète (95 pour 100) — de cet amino-acide en matières humiques, alors que d'autres auteurs (ROXAS) (109) n'ont noté avec leur méthode qu'une transformation partielle de 71 pour 100.

Voici d'ailleurs, pour quelques acides aminés, les chiffres de ROXAS et les nôtres :

	<i>N total transformé en N humique pour cent</i>	
	Expérience de ROXAS	Expériences personnelles
Tryptophane	71,0	95,1
Tyrosine	15,0	35,0
Cystine	3,1	35,0
Arginine	2,33	19,8
Lysine	2,62	2,34
Histidine	1,84	11,2

Il est évident que l'hydrolyse à l'autoclave est bien plus brutale que celle réalisée à la pression atmosphérique sur bain de sable.

La cystine, par ce dernier procédé, ne nous a donné que 18,3 pour 100 d'azote humique, au lieu de 35,0, et encore ce chiffre est-il trop élevé par suite de l'adsorption de la cystine non décomposée sur le noir animal employé pour « coller » les matières humiques. De telle façon que si l'on ne peut pas doser la cystine après hydrolyse à l'autoclave sans s'exposer à des pertes très grandes, on le peut très légitimement après hydrolyse à la pression atmosphérique sur bain de sable (voir chalitre V).

Nos expériences démontrent que cinq amino-acides au moins subissent, du fait de l'hydrolyse à l'autoclave, un déchet important. Ce sont, par ordre de pertes croissantes : la méthionine, l'acide glutamique, la tyrosine, la cystine et le tryptophane. Eprouvent des pertes assez élevées (en additionnant N humique et N ammoniacal), l'histidine, l'oxyproline, la proline, la leucine et l'arginine. Ne sont que peu touchés, deux acides aminés : l'alanine et la glycine.

Les expériences de GAWRILOW et ses collaborateurs (1938) [110] n'ont pas été effectuées selon la même technique d'hydrolyse que la notre, notamment en ce qui concerne la température (180°), la nature de l'acide choisi et sa concentration. Il n'est donc pas étonnant que ses résultats ne soient pas entièrement identiques à ceux que nous avons trouvés. Cependant GAWRILOW note comme nous la destruction très forte de l'acide aspartique et à un moindre degré de l'acide glutamique et de la cystine, ainsi que la résistance des acides monoaminés et celle des acides diamminés, surtout de la lysine. Mais nous devons signaler que GAWRILOW n'a pas dosé la proportion d'azote humique formé.

Il nous a paru tout particulièrement intéressant d'évaluer les taux d'azote ammoniacal et d'azote humique produit par chaque acide aminé au cours de ces opérations.

A ce point de vue, les acides aminés peuvent se ranger sous trois rubriques:

1^o Ceux qui libèrent des quantités à peu près égales d'azote humique et d'azote ammoniacal. Ils sont au nombre de quatre:

	N humique	N ammoniacal	Rapport: N humique N ammoniacal
Lysine	2,34	2,34	1,0
Ornithine	2,93	2,93	1,0
Méthionine	27,86	21,85	1,2
Cystine	35,08	29,82	1,2

Il est bon de noter que l'on trouve dans ce groupe les deux acides diamminés aliphatiques et les deux acides aminés sulfurés.

2^o Ceux qui donnent surtout de l'azote humique. Ce sont les plus nombreux:

	N humique	N ammoniacal	Rapport: N humique N ammoniacal
Acide glutamique .	29,41	10,76	2,7
Proline	12,13	4,18	2,9
Glycine	9,09	2,71	3,3
Oxyproline	20,10	4,18	4,8
Leucine	19,41	3,88	5,00
Histidine	11,2	2,0	5,6
Arginine	19,8	2,37	8,2
Tyrosine	35,04	3,93	8,9
Tryptophane	95,18	3,82	24,8

3° Ceux qui donnent surtout de l'azote ammoniacal. Nous n'en avons trouvé qu'un: l'alanine:

	N humique	N ammoniacal	Rapport: N humique N ammoniacal
Alanine	2,59	6,49	0,39

et il est intéressant de rapprocher ce fait de la facilité de désamination *in vivo* de l'alanine en acide pyruvique et ammoniacque.

On sera peut-être étonné de trouver des pertes aussi importantes, notamment en azote humique, puisque pour les protéides la plupart des auteurs admettent qu'on ne retrouve qu'environ 1 pour cent de l'azote total sous cette forme. En réalité, nous avons vu qu'au cours de nos recherches sur les protéides tissulaires ce taux avait toujours été largement dépassé, alors que nous avions fait appel à la même méthode.

Au surplus, nous ferons remarquer que dans ces quelques expériences sur les amino-acides tout l'acide chlorhydrique a été employé pour la destruction du mono-peptide; il n'en fut pas de même pour les protéides où une fraction notable s'est trouvée constamment utilisée pour l'hydrolyse, ce qui a eu pour conséquence logique de faire apparaître à la fois moins d'azote humique et moins d'azote ammoniacal.

Nous avons pu mettre ce dernier fait en évidence en traitant de manière identique des polypeptides artificiels ou naturels: alanyl-glycine, glycyl-glycine, diglycyl-glycine, glutathion. Nous avons obtenu dans ces conditions les résultats suivants:

	<i>Pour cent de l'azote total</i>		
	N humique	N ammoniacal	Total
Alanyl - glycine ..	1,06	1,60	2,66
Glycyl - glycine ..	2,13	1,88	4,06
Diglycyl - glycine .	3,22	2,30	5,52
Glutathion	6,00	6,80	12,80

Le calcul de la perte totale d'après nos résultats précédents donne, pour des quantités équivalentes de peptides :

Alanyl-glycine	10,44
Glycyl-glycine	11,80
Diglycyl-glycine	11,80
Glutathion	28,14

mais nous tenons encore à faire remarquer la décomposition notable du glutathion due à la présence dans sa molécule d'acide glutamique et de cystine, autrement dit de deux amino-acides très fortement attaqués individuellement.

CONCLUSIONS

1° L'hydrolyse par l'Hcl à l'autoclave, pratiquée dans les conditions énoncées sur les divers amino-acides, entraîne une destruction plus ou moins complète de ceux-ci. La désamination de l'alanine, ornithine, lysine et glycine est faible; celle de l'arginine, leucine, proline et oxyproline est forte; celle de l'histidine, acide glutamique, tyrosine, méthionine et cystine est élevée. Quant au tryptophane, il est entièrement désaminé.

2° La transformation de l'azote aminé en azote ammoniacal ne s'effectue que dans une faible proportion, laquelle

ne dépasse le taux de 5 p. 100 que pour l'alanine, l'acide glutamique, la méthionine et la cystine.

3° La quantité d'azote humique qui se forme au cours de cette hydrolyse acide varie suivant les cas. Très faible avec la lysine, l'alanine et l'ornithine, le taux s'élève avec la glycine, l'histidine et la proline. Il atteint 20 p. 100 avec la leucine, l'arginine et l'oxyproline. Il dépasse — et souvent notablement — cette dernière valeur pour la cystine, l'acide glutamique, la tyrosine et la méthionine, pour atteindre son maximum avec le tryptophane, lequel est à peu près entièrement transformé en matières humiques.

4° Toujours au même point de vue et en ce qui concerne la proportion relative des déchets de l'hydrolyse, les acides aminés peuvent être divisés en trois grands groupes :

a) Ceux qui donnent autant d'azote humique que d'azote ammoniacal: lysine, ornithine, méthionine, cystine;

b) Ceux qui donnent surtout de l'azote humique: acide glutamique, proline, glycine, oxyproline, leucine, histidine, arginine, tyrosine, tryptophane;

c) Ceux qui donnent surtout de l'azote ammoniacal : alanine.

5° Les polypeptides sont moins détruits que les acides aminés, mais on retrouve toujours les mêmes différences dues aux acides aminés eux-mêmes. Les polypeptides à base d'acide glutamique et de cystine subissent notamment une désintégration bien plus intense que ceux qui sont à base d'alanine et de glycine.

CHAPITRE IV

HYDROLYSES SUCCESSIVES A L'AUTOCLAVE REALISEES SUR DES PROTEINES SAINES ET TUMORALES EN DES TEMPS PROGRESSIVEMENT CROISSANTS ET JUSQU'A DISSOCIATION COMPLETE DE LA MOLECULE ALBUMINOIDE

L'hydrolyse totale, telle que nous l'avons pratiquée, renseigne sur la nature et sur la quantité des divers acides aminés qui entrent dans la composition d'un protide, mais nullement sur l'ordre dans lequel ces acides sont associés et qui varie évidemment d'un composé à l'autre. Il était donc intéressant, au cours d'une étude comme celle-ci, de compléter les données recueillies lors de l'hydrolyse totale par l'observation d'hydrolyses partielles et ménagées : tandis que la première indique quelles sont les « pierres à bâtir » de l'édifice protéique, les secondes renseignent sur la valeur du « ciment » qui les relie et sur le degré de cohésion et de solidité de la construction.

La méthode des hydrolyses partielles a été préconisée dès 1900 par ABDERHALDEN qui l'a utilisée initialement lors de recherches sur l'edestine et sur l'hémoglobine (111). Elle

a été reprise la même année par Henri MATHIEU (90) lequel s'est attaché surtout à étudier par des courbes le mode de dégradation des molécules protéiques sous l'influence des divers acides.

Les courbes obtenues par cet auteur ne sont pas continues; elles présentent au contraire un aspect « en escaliers ». Les composés détachés les premiers de l'enchaînement des polypeptides les plus complexes ne se dégagent donc pas d'une façon suivie, mais par intermittences plus ou moins espacées. Au cours de cette démolition progressive de la molécule, les polypeptides les plus simples sont à leur tour dégradés par à-coups successifs, jusqu'au moment où la totalité des protides engagés se trouve réduite à l'état d'acides libres.

Ces courbes montrent par ailleurs que, quel que soit l'acide employé, la manière dont se fait la dissociation ne varie pas; elle est la même avec les acides forts et avec les acides faibles; elle est la même aussi avec des concentrations très différentes.

Depuis ces premiers travaux, diverses recherches ont été poursuivies dans le même sens. Pour notre part, nous avons songé à appliquer cette méthode de l'hydrolyse ménagée à l'étude du comportement respectif des tissus sains et tumoraux. Notre expérimentation a porté à cet égard sur un ensemble de dix cas. Nous allons indiquer ci-dessous la technique suivie, les résultats auxquels nous sommes parvenus et, à leur propos, les déductions qu'il nous a paru logique d'en tirer quant au mode de constitution général de la molécule protéique.

TECHNIQUE UTILISÉE

Elle est la répétition fidèle, à des stades successifs de la dislocation hydrolytique, de la technique déjà décrite à propos de l'hydrolyse totale.

Des prises d'essai de l'ordre de 200 à 400 mgr. de poudres de protéines bien sèches ont été soumises à l'action de l'autoclave à 140° en présence d'HCl dilué à 20 %, pendant des temps variables et progressivement croissants de 20 minutes, 40 minutes, 90 minutes et 3 heures. Au cours de ces épreuves de plus en plus poussées, l'hydrolyse de la protéine s'est complétée peu à peu, jusqu'à devenir totale au moment de la dernière expérience.

Après chaque étape, les matières humiques et l'ammoniaque ont été éliminées suivant le mode habituel, tandis que les acides diaminés et monoaminés étaient séparés par filtration sur permutite. Les quantités d'azote ont été dosées suivant la méthode de PREGL à la suite de chacune de ces manipulations.

Les opérations ont été menées simultanément sur la tumeur et sur la partie saine correspondante.

Les résultats ont été évalués en p. 100 de l'azote total contenu dans le tissu et figurent sur les tableaux ci-après (tableaux VII).

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

I. — De l'examen de chaque tableau considéré isolément il ressort:

1° Que la désintégration des protéines à l'autoclave et en milieu acide s'effectue de manière progressive. En effet

la quantité d'azote ayant résisté à l'hydrolyse et ne figurant pas dans la constitution des amino-acides libérés, décroît à mesure que l'action de l'autoclave se poursuit. Nous savons déjà que, pour une part, cet azote peut être considéré comme perdu et entre dans la formation des matières humiques;

2° Que le taux des acides monoaminés augmente progressivement jusqu'au terme de l'hydrolyse. Après une phase de libération assez massive lors des 20 premières minutes de séjour à l'autoclave, le complément de ces peptides ne se détache plus par la suite que peu à peu de l'édifice protéique ;

3° Que l'évolution des diamino-acides est un peu plus complexe. Au cours des opérations hydrolytiques, leur taux ne varie que dans des limites relativement étroites et semble par ailleurs aller en décroissant. On peut en conclure que le détachement des bases hexoniques du bloc protéique s'effectue en totalité de manière très rapide. Ultérieurement, une certaine partie de ces bases (15 pour 100 environ) disparaît sous l'influence de l'action prolongée de la chaleur sous pression, très vraisemblablement par désamination, ainsi qu'en témoigne l'accroissement habituel concomitant du taux de l'ammoniac dégagé. Toutefois, il ne paraît pas exister une correspondance très exacte entre ces deux phénomènes et ceci laisse supposer l'intervention surajoutée d'un autre processus, tel que la transformation partielle de certains acides diamminés en monoamino-acides (scission par exemple de l'arginine avec production d'ornithine) (note 1).

NOTE 1. — Nous avons pratiqué la réaction du biuret après chaque temps de l'hydrolyse ménagée et sur tous les prélèvements. Nous avons constaté à chaque fois que la négativation se produit entre la 40^e et la 90^e minute de l'expérience. Ce fait prouve une fois de plus l'imperfection déjà signalée de cette réaction, dont le virage s'effectue bien avant que la dissociation totale des composés polypeptidiques ne se soit réalisée.

II. — Si l'on compare maintenant le déroulement de la réaction dans le tissu tumoral et dans le tissu sain d'origine, on constate qu'il est assez semblable dans l'un et l'autre cas.

- Nous avons vu, au cours d'un chapitre précédent (p. 94), qu'après hydrolyse totale le taux des acides diamminés est plus élevé dans la tumeur lorsqu'il s'agit d'un cancer, alors que c'est le contraire qui se produit lorsqu'on a affaire à une néoformation bénigne. Quant aux acides monoaminés, ils subissent par contre-coup des variations inverses.

Lorsqu'on procède, comme nous venons de le faire, à des hydrolyses ménagées et que l'on observe la libération successive des amino-acides, on s'aperçoit que les différences signalées ci-dessus entre les tissus sains et pathologiques subsistent pendant toute la durée de l'opération. Ce fait apparaît avec une particulière évidence lorsqu'on confronte les rapports acides diamminés dont nous avons déjà eu

acides monoaminés

l'occasion de signaler tout l'intérêt. En effet, tandis qu'à la phase terminale de l'hydrolyse protéique (c'est-à-dire après 3 heures de séjour à l'autoclave) le rapport précédent gravite autour d'une moyenne de 0,31 pour les tissus normaux et de 0,36 pour les tumeurs, au stade initial de cette hydrolyse (soit après 20 minutes d'autoclave) il atteint respectivement des taux de 0,42 et de 0,47, pour se maintenir entre ces valeurs extrêmes, au cours des étapes intermédiaires de l'opération.

Par contre, il ne semble pas qu'il y ait une résistance ou au contraire une labilité spéciale de l'une ou de l'autre de ces deux catégories d'acides à l'égard du processus hydrolytique, lorsqu'on examine comparativement la molécule protéique tumorale et celle du tissu normal voisin,

III. — En définitive, on assiste dans les deux cas à une libération rapide, massive et totale des acides diaminés sous l'action de l'autoclave, alors que dans les mêmes conditions le détachement des acides monoaminés est plus lent et s'opère par échelons successifs.

Est-il possible de tirer de ces quelques faits des données intéressantes quant à la structure intime des micelles protéïdiques ? Nous croyons ne pouvoir mieux faire sur ce point que de nous reporter aux excellents travaux publiés récemment par CAHN (91) et par BONCH (112). Ces travaux viennent eux-mêmes à l'appui de la théorie « du groupement prosthétique de la molécule albuminoïde », jadis introduite par KOSSEL (113) pour éclairer la représentation que nous devons nous faire de la façon dont les substances protéïques des tissus s'édifient ou se détruisent.

On sait que, selon les auteurs précédents, les micelles protéïdiques seraient constituées par un noyau central (véritable groupement prosthétique de KOSSEL) de composition bien définie pour un protéïde donné ; autour de cet édifice primordial se grouperaient des chaînes de polypeptides labiles et de composition essentiellement sujette à variations. Tandis que les éléments du noyau, relativement très stables, joueraient un rôle plutôt statique, ceux des chaînes latérales, au contraire, seraient l'objet de mutations constantes, et se trouveraient engagés dans des équilibres dynamiques d'autant plus mobiles que leur position serait plus distale.

Effectivement les expérimentateurs ont insisté depuis longtemps sur le fait qu'au cours des opérations d'hydrolyse on constate que les divers acides aminés se détachent avec des vitesses très inégales de l'édifice protéïque où ils sont intégrés : c'est ainsi par exemple que le tryptophane et la tyrosine apparaissent plus vite dans l'hydrolysats que la phe-

nylalanine, laquelle semble appartenir à des complexes plus résistants. D'une manière générale, on tend à admettre que les « noyaux » seraient essentiellement formés de bases hexoniques — et avant tout d'arginine — alors que les « chaînes labiles » se composeraient plus particulièrement de monoaminoacides, dont notamment la cystine (CAHN).

Les expériences que nous venons d'apporter ne sont aucunement en désaccord avec une telle figuration de la constitution moléculaire des protides. Bien au contraire. Ainsi que nous l'avons déjà exposé, elles opposent, en effet, d'une part les acides diaminés qui se détachent d'emblée, « en bloc », et à des taux sensiblement constants de la masse protéique qui les renferme, d'autre part les acides monoaminés qui ne se dissocient que peu à peu, par fractions successives, comme s'ils se trouvaient compromis dans des combinaisons plus ou moins complexes. Et le comportement est le même tant dans le tissu sain que dans la tumeur, comme si leur texture était identique.

Pour intéressantes que soient ces conclusions, nous nous gardons bien toutefois de les considérer comme définitives. En effet, il est possible notamment que l'ordre — et même la façon — dont se libèrent les amino-acides varie suivant le catalyseur employé. Pour bien faire, nous ne devrions même tenir compte, à priori, que du mode d'attaque normal des protides par les ferments endocellulaires des organes auxquels ils appartiennent. Néanmoins l'hypothèse que nous venons de soutenir nous paraît raisonnable dans l'attente du moment où l'apparition de techniques nouvelles permettra de pousser plus avant dans l'intimité des faits.

TABLEAUX VII

RESULTAT DES HYDROLYSES MENAGEES REALISEES
EN DES TEMPS PROGRESSIVEMENT CROISSANTS
PAR COMPARAISON AVEC L'HYDROLYSE TOTALE

PARTIE SAINÉ S

a) *Sarcome fuso-cellulaire de la cuisse (tumeur n° 1)*

PARTIE TUMORALE T

S	20'	40'	90'	3 h.	T	20'	40'	90'	3 h.
N non aminé et humique	33.72	28.10	"	24.49	N non aminé et humique	38.65	26.25	"	23.08
NH ³	3.62	3.60	"	5.23	NH ³	3.11	4.08	"	4.29
N. ac. diaminés	16.51	16.54	"	15.38	N. ac. diaminés	19.32	18.87	"	17.54
N. ac. monoaminés	46.15	51.76	"	54.90	N. ac. monoaminés	38.92	50.80	"	55.07

b) *Epithélioma cylindrique du rectum (tumeur n° 2)*

S	20'	40'	90'	3 h.	T	20'	40'	90'	3 h.
N non aminé et humique	19.48	16.18	14.88	14.28	N non aminé et humique	21.88	21.19	18.80	15.83
NH ³	4.67	6.74	4.72	4.20	NH ³	3.38	3.53	3.04	3.69
N. ac. diaminés	18.77	13.98	16.65	17.78	N. ac. diaminés	21.40	17.28	17.78	20.12
N. ac. monoaminés	57.28	63.10	63.75	63.74	N. ac. monoaminés	53.34	58.00	60.38	60.36

c) *Epithélioma cylindrique du rectum (tumeur n° 3)*

S	20'	40'	90'	3 h.	T	20'	40'	90'	3 h.
N non aminé et humique	26.08	20.17	15.90	16.22	N non aminé et humique	28.47	24.50	22.55	21.19
NH ³	2.30	3.27	4.60	4.28	NH ³	3.31	4.65	3.60	3.65
N. ac. diaminés	18.40	17.42	19.05	18.40	N. ac. diaminés	20.54	19.20	20.20	20.53
N. ac. monoaminés	53.22	59.14	60.45	61.10	N. ac. monoaminés	47.68	51.65	53.65	54.63

S	20'	40'	90'	3 h.	T	20'	40'	90'	3 h.
N non aminé et humique	25.03	18.75	"	16.43	N non aminé et humique	25.62	24.23	"	15.85
NH ³	5.00	6.61	"	6.60	NH ³	3.50	4.68	"	9.78
N. ac. diamminés	12.83	10.90	"	10.59	N. ac. diamminés	23.05	20.46	"	19.20
N ac. monoaminés	57.14	63.74	"	66.38	N ac. monoaminés	47.83	50.63	"	55.17

e) Epithélioma malpighien du col utérin (tumeur n° 11)

S	20'	40'	90'	3 h.	T	20'	40'	90'	3 h.
N non aminé et humique	23.18	17.88	"	15.03	N non aminé et humique	34.02	26.84	"	23.48
NH ³	1.32	2.66	"	3.32	NH ³	3.35	4.36	"	3.75
N. ac. diamminés	20.34	19.20	"	18.88	N. ac. diamminés	23.31	22.50	"	21.45
N ac. monoaminés	55.16	60.26	"	62.77	N ac. monoaminés	39.32	46.30	"	51.32

f) Epithélioma malpighien du col utérin (tumeur n° 12)

S	20'	40'	90'	3 h.	T	20'	40'	90'	3 h.
N non aminé et humique	24.52	17.22	14.90	15.03	N non aminé et humique	23.55	19.28	17.94	16.95
NH ³	2.00	2.32	"	2.52	NH ³	4.35	1.27	2.32	2.65
N. ac. diamminés	20.48	18.54	18.50	16.55	N. ac. diamminés	22.25	21.60	20.26	20.60
N ac. monoaminés	53.00	61.92	66.60	65.90	N ac. monoaminés	49.85	57.85	59.48	59.80

PARTIE SAINES

g) *Leiomyome utérin (tumeur n° 15)*

PARTIE TUMORALE T

S	20'	40'	90'	3 h.	T	20'	40'	90'	3 h.
N non aminé et humique	28.68	24.22	23.68	20.70	N non aminé et humique	24.22	21.34	20.45	19.22
NH ³	3.98	3.42	3.15	5.60	NH ³	3.34	3.21	3.45	5.48
N. ac. diaminés	21.76	20.72	20.53	20.40	N. ac. diaminés	17.34	17.00	16.65	15.40
N ac. monoaminés	45.58	51.64	52.64	53.28	N ac. monoaminés	55.10	58.45	59.45	59.90

h) *Epithélioma atypique du corps utérin (tumeur n° 16)*

S	20'	40'	90'	3 h.	T	20'	40'	90'	3 h.
N non aminé et humique	23.00	21.42	20.42	13.92	N non aminé et humique	29.34	23.66	21.13	17.34
NH ³	3.25	4.85	5.63	4.12	NH ³	1.34	4.00	4.13	3.66
N. ac. diaminés	24.00	21.88	19.90	21.28	N. ac. diaminés	21.66	23.14	24.74	23.66
N ac. monoaminés	49.75	51.85	54.05	60.68	N ac. monoaminés	47.66	49.20	50.00	55.34

i) *Leiomyome utérin (tumeur n° 17)*

S	20'	40'	90'	3 h.	T	20'	40'	90'	3 h.
Même utérus d'origine que dans la tumeur maligne précédente — n° 16.	comme au n° 16	id.	id.	id.	N non aminé et humique	24.62	17.15	»	12.57
					NH ³	3.87	4.90	»	5.30
					N. ac. diaminés	21.94	19.45	»	18.65
					N ac. monoaminés	49.60	58.50	»	63.48

j) *Albumine de Bence-Jones et sérum-albumine normale (n° 19)*

S	20'	40'	90'	3 h.	T	20'	40'	90'	3 h.
N non aminé et humique	41.02	40.39	33.65	29.82	N non aminé et humique	37.00	30.81	30.12	20.44
NH ³	5.45	7.05	4.49	4.80	NH ³	2.20	8.17	3.32	11.64

CHAPITRE V

DOSAGE PAR LES METHODES COLORIMETRIQUES DE QUELQUES AMINO-ACIDES FONDAMENTAUX CONTENUS DANS LES TUMEURS

Dans les chapitres précédents, nous n'avons envisagé que les variations *globales* présentées par les acides diaminés et les acides monaminés au cours du développement tumoral. Or il nous a paru opportun de compléter ces données par l'étude *individuelle* de quelques amino-acides, choisis parmi ceux qui offrent le plus d'intérêt du point de vue biologique.

Les travaux publiés jusqu'à présent sur ce point sont, à vrai dire, peu nombreux. Si l'on met à part les quelques expériences relatives à l'influence qu'exerce sur la croissance des tumeurs l'apport de tel ou tel régime carencé (note 1), la plupart des recherches antérieurement poursuivies

NOTE 1. — En particulier des essais ont été faits en vue de déterminer l'action que peut avoir sur le développement des greffes cancéreuses chez le rat un régime privé de lysine (COURRIER et COSTES) (114) ou de cystine (A. et M. GOERNER) (56). En réalité, le rôle exact du facteur alimentaire dans la genèse et l'extension des tumeurs malignes est encore loin d'être élucidé et les opinions sur ce sujet demeurent très divergentes.

nous sont déjà connues (voir p. 41 et 42), et nous n'avons pas manqué, en les rapportant, de souligner leur caractère essentiellement fragmentaire. C'est ainsi que l'on rencontre, épars dans la littérature, quelques documents sur l'acide glutamique, la phenylalanine, l'acide aspartique, la tyrosine, le glycocolle, le tryptophane, les bases hexoniques en général, et tout récemment le glutathion, sans qu'aucun rapprochement intéressant n'ait jamais été tenté entre les divers faits constatés. Au surplus, les conclusions auxquelles aboutissent les différents auteurs se montrent le plus souvent contradictoires. On est donc en droit de s'étonner de ce qu'aucun travail d'ensemble n'ait été réalisé touchant à une aussi importante question, au moins en ce qui concerne les acides aminés réputés essentiels.

Nous n'avons certes pas la prétention, au cours de cet exposé, de venir combler cette lacune. Nous nous sommes simplement proposés d'étudier les variations qu'accusent à l'intérieur des tissus tumoraux certains mono-peptides que nous considérons comme plus particulièrement dignes de retenir l'attention. En définitive, notre choix s'est porté sur cinq d'entre eux : *l'arginine, l'histidine, la lysine, la cystine et le tryptophane.*

Ce choix nous paraît justifié pour des raisons que nous allons maintenant indiquer et qui établissent de manière évidente l'action prépondérante de ces substances au cours des métabolismes tissulaires.

*
**

La détermination du rôle biologique joué par les différents acides aminés s'est heurtée pendant longtemps à de sérieuses difficultés techniques. Pour définir le caractère de nécessité plus ou moins impérieux de tel ou tel amino-acide, on a eu tout d'abord recours à l'emploi, comme ali-

ments, de protides incomplets dépourvus d'un ou plusieurs de leurs principes fondamentaux. Mais, en pratique, ces procédés n'ont procuré que des résultats partiels, dans l'incapacité où ils étaient de réaliser toute la gamme des carences spécifiques. C'est alors que l'idée est venue à certains auteurs — et notamment à HOPKINS (115) et à ABDERHALDEN — de remplacer les matières albuminoïdes de la ration alimentaire par un mélange artificiel d'acides-amino purs. Ultérieurement les mêmes recherches furent reprises et poursuivies chez le rat par W. C. ROSE (59 et 116) avec un succès tout particulièrement brillant. Chacun des mono-peptides ayant été successivement exclu de l'alimentation, il devint possible à cet auteur américain de dresser dans un tableau définitif, valable au moins pour le rat, la liste des acides-amino suivant leur rôle dans la nutrition.

Or, il résulte des travaux de ROSE que, seuls, neuf acides aminés sont « absolument indispensables » à la vie. Ce sont : la lysine, le tryptophane, l'histidine, la phenylalanine, la leucine, l'isoleucine, la thréonine, la méthionine et la valine. Par ailleurs, l'arginine doit être considérée comme « partiellement nécessaire ».

Quant aux autres mono-peptides, y compris la cystine, il semble bien que l'organisme puisse normalement s'en passer sans en subir un préjudice appréciable.

Une telle catégorisation, établie sur des bases nouvelles, exige évidemment quelques précisions.

Tout d'abord, le premier fait qui attire l'attention a trait à l'arginine. Le tableau de ROSE confère en effet à ce mono-peptide une position spéciale — et en quelque sorte intermédiaire — dans la nomenclature, position susceptible peut-être d'apporter un terme aux controverses multiples qui ont marqué l'histoire de ce corps. A cet égard, chacun sait que le titre d'acide-amino indispensable lui fut tour à tour ac-

cordé, puis contesté, et enfin enlevé (117) quand on sut que l'organisme du jeune rat est capable d'en effectuer la synthèse. En réalité, il semble désormais bien établi que cette synthèse endogène est insuffisante à couvrir à la fois les besoins d'entretien et de *croissance* de l'être vivant. Il faut donc à celui-ci l'appoint supplémentaire d'un apport exogène, faute de quoi la croissance, toujours possible cependant, ne peut se développer que sur un rythme ralenti. De là le caractère *apparemment relatif* du besoin nutritif en cet acide aminé, *notion qui ne diminue en rien l'importance du rôle biologique assumé par celui-ci.*

Un second point mérite une explication ; il se rapporte aux *acides aminés soufrés*, et vise plus spécialement le discredit qui vient de frapper *la cystine* au profit de son collatéral chimique, la *méthionine*.

Jusqu'à ces dernières années, l'opinion unanime des physiologistes, à la suite des travaux d'OSBORNE et de MENDEL, attribuait à la cystine la valeur d'un facteur indispensable de croissance. Or, la découverte de la méthionine par MUELLER en 1921 est venue provoquer un remaniement complet de cette question et a fait perdre à la cystine sa place de premier plan dans la ration protéique.

Il est, en effet, démontré désormais que la méthionine peut remplacer partout la cystine sans perte d'efficacité (BENNETT) (118). Par contre, la réciproque s'avère fausse, puisque la cystine ne peut remonter à la méthionine, ni se substituer à elle (BRAND) (119).

Dès lors, la méthionine apparaît comme le seul élément nécessaire parmi les amino-acides sulfurés. Toutefois il faut bien se garder d'en conclure que, seule, elle possède un rôle physiologique à remplir. Il est au contraire fort probable que des taches différentes échoient à l'un et à l'autre de ces deux acides thio-aminés dans l'économie générale.

C'est ainsi qu'il ressort de quelques travaux tout récents qu'une distinction doit être faite en ce qui concerne les besoins de l'organisme en méthionine : tandis qu'une fraction modique de ce corps se révèle absolument irremplaçable, et suffit à peine à assurer un entretien précaire, l'autre fraction (soit environ les 5/6) réalise une sorte de « volant » *susceptible d'être remplacé intégralement par la cystine.*

Si donc ce dernier amino-acide a perdu son rang de constituant essentiel de la ration, son rôle métabolique demeure certain comme *facteur éventuel de croissance.* C'est à ce titre qu'il continue à nous intéresser *et qu'il mérite de conserver dans la classification une place particulière.*

Les trois autres amino-acides dont nous avons entrepris l'étude ne nous retiendront guère, leur signification biologique paraissant actuellement suffisamment établie. C'est ainsi que le *tryptophane* et l'*histidine* sont classiquement considérés comme des *facteurs stricts d'entretien*, cependant que la *lysine* a vu son rôle *d'élément de croissance* universellement reconnu depuis les expériences célèbres d'OSBORNE et de MENDEL, déjà mentionnées ci-dessus (note 1).

En définitive, on voit que les recherches que nous allons exposer portent sur une sélection de principes fondamentaux dont l'importance biologique ne saurait être mise en doute, et qui s'adressent à la fois aux deux modalités essentielles de l'activité cellulaire.

Tel est le champ auquel nous avons limité notre enquête. Il eut pourtant été intéressant d'englober dans ce chapitre d'expérimentation deux autres amino-acides de croissance qui sont actuellement très à l'ordre du jour. Ce sont d'une

NOTE 1. — On consultera sur ce point avec fruit le récent article publié par M. LAFON (120) lequel contient une importante bibliographie.

part *la méthionine* dont nous venons d'indiquer l'action dans l'organisme et d'autre part *la thréonine*, dont la découverte date de fort peu de temps et se trouve en quelque sorte à l'origine des travaux de ROSE (note 2). Malheureusement les méthodes de dosage de ces mono-peptides ne sont pas encore suffisamment au point pour permettre de tabler sur les résultats obtenus.

Quant aux autres acides aminés considérés comme « indispensables », leur rôle physiologique demeure très incertain, leur intervention en tant que facteurs d'entretien n'étant pas pour l'instant nettement établie.

*
**

Les dosages de l'arginine, de l'histidine, de la cystine et du tryptophane ont été effectués au cours de nos expériences suivant des *techniques colorimétriques*.

Il est certain qu'au début nous n'avons pas été sans partager le scepticisme qu'il est d'usage de manifester à leur égard, malgré la simplicité de leur exécution et la grande sensibilité dont elles font preuve. On sait en effet combien sont nombreux les chimistes qui les considèrent encore d'un oeil plutôt défavorable, leur reprochant d'être par trop approximatives.

Une seule raison suffirait déjà à justifier notre choix. Les méthodes purement chimiques nécessitent en effet la mise en œuvre de prises d'essai importantes, ne serait-ce que pour permettre la précision des pesées. Or nous n'avons pu disposer au cours de nos recherches que de quantités de protéines tissulaires constamment minimes,

NOTE 2. — La dénomination de ce corps provient de sa parenté stéréo-chimique avec un sucre, le d-thréose,

puisque nous avons dû multiplier les réactions sur des échantillons ne dépassant guère 2 à 3 grammes au total.

Par ailleurs, nous avons estimé pouvoir obtenir par la colorimétrie des résultats d'une rigueur suffisante, nous étant assigné comme but essentiel, non pas tant de connaître le taux exact des amino-acides en cause, *que d'apprécier leurs variations respectives du fait de l'apparition dans les tissus d'un processus tumoral*. Au demeurant, toutes les méthodes que nous avons choisies ne comportent que des marges d'erreur relativement faibles. Pour réduire encore celles-ci dans la mesure du possible, nous avons substitué à l'emploi des colorimètres couramment en usage, l'utilisation d'un appareil particulièrement perfectionné, à savoir *l'analyscomètre de Jouan*, lequel est basé sur le principe des cellules photo-électriques. Grâce à lui, nous avons pu réaliser rapidement des lectures d'une extrême précision, l'où se trouvait exclu tout coefficient personnel d'interprétation.

Quant à la lysine, il nous a été impossible de la doser semblablement, aucune méthode colorimétrique n'ayant encore été mise au point concernant cet amino-acide. A défaut d'autre moyen utilisable, nous nous sommes donc bornés, pour en évaluer le taux, à calculer la différence qui existe dans chaque cas entre l'azote diaminé total et l'azote diaminé provenant des deux autres bases hexoniques. Déjà ce mode de dosage différentiel a été utilisé par J. ROCHE (121) qui a eu recours à cet effet à la précipitation phosphotungstique, laquelle réalise l'isolement global des trois diamino-acides; ce temps effectué, il suffit dès lors de doser colorimétriquement l'arginine et l'histidine et l'auteur emploie à cette fin la technique de Mlle JEAN pour la première et celle de HANKE et KOSSLER pour la seconde. En réalité, le calcul auquel on aboutit ainsi manque de préci-

sion de l'aveu même de ce chimiste. Aussi avons-nous pensé qu'il pouvait être intéressant de reprendre cette question et nous avons cherché à savoir s'il n'y avait pas avantage à remplacer la précipitation phosphotungstique par le *procédé dit « des permutations »* dont nous avons déjà vu la valeur sélective, les dosages colorimétriques des divers amino-acides étant par ailleurs réalisés suivant des techniques particulièrement récentes.

Ce sont les résultats auxquels nous sommes parvenus à la suite de ces recherches que nous allons maintenant exposer.

I. — LA CYSTINE

Choix de la méthode.

La technique qui nous a paru actuellement la meilleure pour le dosage de cet amino-acide est celle de MARENZI (122) qui est fondée sur l'action réductrice de la cystéine, formée à partir de la cystine, vis-à-vis du réactif phosphotungstique de FOLIN. Elle suppose une hydrolyse préalable des protéines par les acides forts et permet l'évaluation de la cystine totale contenue dans les prélèvements.

La microméthode choisie présente cet avantage sur le procédé plus ancien de FOLIN et MARENZI (123) de n'exiger que des prises d'essai relativement minimales (0,1 à 0,05 gr. de protéines au lieu de 1 à 5 gr.). Ce dernier procédé n'est d'ailleurs lui-même qu'une adaptation de la méthode primitive de FOLIN et LOONEY (124), laquelle exposait à deux sortes de causes d'erreur : tout d'abord elle faisait entrer la tyrosine dans la réaction (présence dans le réactif utilisé

de molybdate intervenant sur le noyau phénol de la tyrosine), ensuite elle provoquait parfois l'apparition d'une certaine opalescence due à la transformation incomplète de la cystine en cystéine. Grâce à des modifications heureuses portant sur certains détails de technique, la méthode de MARENZI échappe à toutes ces critiques. Sa précision toutefois ne dépasse guère le taux de 5 p. 100.

Résultats obtenus.

Le taux de la cystine totale contenue dans les prélèvements d'organes sains que nous avons analysés a oscillé autour d'une moyenne de 0,85 p. 100 de protéines, avec des extrêmes de 0,60 à 1,24 (tableau VIII). Ces résultats sont assez différents de ceux obtenus par Mme A. ROCHE (93) qui a noté dans les protéines musculaires des chiffres aux environs de 3,30 p. 100. Il est vrai que les expériences auxquelles nous faisons allusion ont été réalisées exclusivement sur des muscle d'animaux et au moyen d'une technique autre que la nôtre (méthode de FOLIN et MARENZI non modifiée).

En réalité, ce n'est point tant l'expression de ces taux en valeur absolue qui nous intéresse ici, que les variations qu'ils subissent ceux-ci du fait de la déviation pathologique. A cet égard, l'étude comparative de la teneur en cystine des tissus sains et des tissus tumoraux nous a paru particulièrement instructive. Dans tous les cas en effet, à l'exception d'un seul (tumeur n° 21), nous avons observé une augmentation du contenu des tumeurs en cet amino-acide, et ceci dans des proportions relativement importantes (taux moyen : 0,97 pour cent dans les néoformations).

Si l'on confronte ensuite les résultats obtenus dans les tumeurs malignes et dans les tumeurs bénignes, on arrive à cette notion que ce sont ces dernières qui semblent bénéficier de la moyenne la plus haute (1,07 au lieu de 0,87 pour

cent de protéines). Néanmoins cette donnée mérite d'être accueillie avec la plus expresse réserve, si l'on considère que le cas aberrant déjà signalé appartient précisément à un myome utérin et vient s'inscrire en faux contre toute généralisation hâtive.

En définitive, une conclusion — et une seule — doit être tirée des expériences que nous avons réalisées sur la cystine: c'est que *la teneur en cet amino-acide s'accroît d'une manière sensiblement constante dans un tissu en cours de transformation tumorale*.

Cette constatation n'est pas sans intérêt, et le fait qu'elle exprime n'est sans doute pas la conséquence d'un hasard, si l'on songe que la cystine est un facteur de croissance, ayant du point de vue de l'évolution tissulaire un potentiel qui est loin d'être négligeable, malgré les restrictions faites récemment par les physiologistes quant à son rôle effectif.

II. — LE TRYPTOPHANE

Choix de la méthode.

Dès 1905, VOISENET (125) a indiqué une réaction aldéhydique caractérisée par l'apparition d'une coloration bleu-violet lorsqu'on mélange une protéine en solution ou en suspension aqueuse avec du formol et du nitrite de sodium en milieu sulfurique. C'est en partant de ce procédé que O. FURTH et ses collaborateurs (126 et 127) ont décrit une méthode de dosage du tryptophane dans les diverses substances protéiques.

C'est encore en s'inspirant de la méthode de VOISENET que KOMM et BÖHRINGER (128 et 129) ont mis tout récemment

au point une modification nouvelle de la réaction aldéhydique du tryptophane, permettant une estimation relativement précise de cet amino-acide en milieu protéique (approximations de l'ordre de 8 pour 100 pour J. ROCHE) (121). C'est à la technique proposée par ces derniers auteurs que nous nous sommes adressés en vue de nos dosages (note 1).

Il est intéressant de signaler que la réaction aldehydique est toujours beaucoup plus lente à se produire avec du tryptophane pur qu'avec du tryptophane combiné à une protéine ou mis en contact avec un noyau pyrole, lequel a la propriété d'accélérer le processus (121). Ces dernières conditions particulièrement favorables étant trouvée réalisées au cours de nos expériences, nous avons pu observer le virage dans des délais relativement brefs (1 h. à 1 h. 30 environ).

Il peut arriver parfois que l'on obtienne, au lieu de la coloration bleu-violet désirée, une teinte brunâtre ou « rouille ». Dans ce cas, la lecture à l'analyscomètre devient très imprécise, souvent même impossible, et il n'y a guère alors d'autre ressource que de recommencer l'opération.

Résultats obtenus.

De l'examen des résultats obtenus sur les organes sains mis en expérience, il ressort (voir tableau VIII) que le taux du tryptophane inclus dans les tissus normaux oscille entre les extrêmes de 0 gr. 90 à 1 gr. 50 pour 100 de protéines,

NOTE 1. — Bien d'autres réactions colorimétriques ont été proposées pour la mise en évidence du tryptophane. Parmi elles nous nous bornerons à citer la méthode ancienne d'ADAMKIEWICZ, considérée à l'origine comme indicatrice des protéines, reconnue ensuite par COLE (130) comme spécifique du noyau indole et enfin adaptée par FASAL (74) en vue du dosage du tryptophane. En réalité, aucune de ces techniques ne paraît offrir autant de garanties que celle que nous avons choisie pour nos recherches.

avec une moyenne de 1,10 environ. Ces chiffres sont un peu inférieurs à ceux précédemment enregistrés par M^{me} ROCHE (1.75 en moyenne), mais il convient de souligner le fait que cet auteur s'est adressé exclusivement à des protéines musculaires animales au cours de ses recherches.

Si l'on compare maintenant les chiffres concernant les tissus sains d'une part et les tissus tumoraux de l'autre, on s'aperçoit qu'il existe souvent entre eux des différences nettes, mais celles-ci se produisent dans des sens variables, tantôt au profit de l'organe normal, tantôt au profit de la tumeur, sans qu'il soit possible de dégager de cette confrontation une indication intéressante. Au surplus, les moyennes paraissent s'équilibrer sensiblement (1.135 pour les tumeurs, au lieu de 1,12 pour les tissus sains).

Enfin si l'on envisage parallèlement la teneur en tryptophane des néoformations bénignes et celle des néoformations malignes, on constate encore, de part et d'autre, une certaine irrégularité dans le comportement. Toutefois il semble que, d'une manière générale, le taux de cet amino-acide soit particulièrement élevé dans les tissus cancéreux, notion que vient d'ailleurs confirmer l'établissement des moyennes (1 gr. 28 pour 100 dans les néoplasmes au lieu de 0 gr. 99 pour 100 dans les myomes). *A vrai dire, ce fait ne nous a pas paru suffisamment constant pour permettre d'en tirer des conclusions valables quant à l'évolution chimique des tumeurs.*

En définitive, le taux du tryptophane paraît subir des modifications du fait de la transformation tumorale, mais ces variations ne s'opèrent pas dans un sens toujours identique et demeurent de faible intensité. Tout au plus peut-on admettre un pourcentage plus élevé en cet amino-acide dans les néoplasies malignes par comparaison avec les tumeurs bénignes.

III. — L'ARGININE

Choix de la réaction.

Deux méthodes de *dosage colorimétrique* sont actuellement utilisées pour l'arginine. L'une d'elles, préconisée par K. LANG (131), se base sur la réaction colorée que donnent les dérivés guanidiniques en présence de diacétyle ou d'acétylbenzoïle en milieu alcalin. L'autre, proposée par C. J. WEBER (133), dérive de la réaction de SAKAGUCHI et se fonde sur l'apparition d'une coloration rouge chaque fois qu'une solution alcaline d'arginine entre en contact avec l' α naphthol en présence d'un halogène.

Au cours d'une étude critique de ces techniques, Mlle G. JEAN (133) donne la préférence à la méthode de WEBER, mise en œuvre suivant le protocole établi par E. JORPES et S. THOREN (134), la jugeant supérieure à celle de LANG au triple point de vue de la fidélité, de la simplicité et de la précision. Elle reconnaît toutefois que cette méthode présente un inconvénient, celui de comporter des « ratés » chaque fois qu'à la coloration rose que l'on doit normalement obtenir se substitue une teinte jaunâtre, rendant illusoire toute lecture au colorimètre, et ceci sans qu'il soit possible d'incriminer une erreur quelconque de technique.

C'est à Chr. DUMAZERT et à Mlle R. POGGI (135) que revient le mérite d'avoir assuré à la réaction une constance et une stabilité plus grandes, grâce à l'addition en temps voulu d'une quantité suffisante d'alcool.

Le grand avantage de la méthode ainsi mise au point est qu'elle permet un dosage colorimétrique direct de *l'arginine*

contenue en solution dans les hydrolysats protéiques sans qu'il soit nécessaire d'isoler préalablement ce diamino-acide par l'acide phosphotungstique.

Par ailleurs, la marge d'erreur qu'elle comporte n'est que de l'ordre de ± 2 pour 100, alors que la technique de JORPES et THOREN, même corrigée selon les indications de Mlle JEAN, ne fournit des résultats valables qu'à 4 ou 5 pour 100 près.

Toutefois, un fait est intéressant à signaler avant d'en arriver aux données pratiques : c'est que la réaction de SAKAGUCHI — ainsi d'ailleurs que toutes ses variantes — est en réalité *spécifique du groupement guanidique*. On conçoit dès lors qu'elle soit caractéristique, non seulement de l'arginine, mais encore de tous les dérivés monosubstitués de la guanidine (note 1). C'est là un détail qu'il importe de ne pas perdre de vue dans l'interprétation des résultats.

Résultats obtenus.

Il suffit de jeter un coup d'œil sur le tableau n° VIII pour s'apercevoir que la technique que nous avons employée fixe le taux moyen d'arginine dans les organes sains un peu au-dessous de 5 grammes pour 100 de la protéine totale. Ces résultats sont de même ordre que ceux précédemment obtenus par CAHN (91), encore que cet auteur ait trouvé des chiffres plus élevés que les nôtres et compris entre 7 et 8 gr. pour 100. Il convient toutefois de renouveler à ce propos les mêmes remarques que pour la cystine et le tryptophane (les examens ont été pratiqués ici encore à l'aide d'une méthode de dosage différente et sur des muscles d'animaux).

Si l'on compare maintenant les valeurs enregistrées au

NOTE 1. — Les dérivés bisubstitués (créatinine) ne donnent aucune coloration.

cours des diverses expériences que nous avons réalisées, on constate qu'elles sont en moyenne plus basses dans la partie tumorale que dans la partie saine (4 gr. 50 au lieu de 4 gr. 95).

En réalité, il n'y a pas lieu, selon nous, de tirer une conclusion quelconque de ces données, les résultats étant par trop variables d'un prélèvement à l'autre, même en ce qui concerne les tissus et les néoplasies de même origine histologique.

IV. — L'HISTIDINE

Choix de la méthode.

La réaction du noyau imidazole avec l'acide diazobenzène sulfonique qui a été introduite dans la chimie des protéines par PAULY (136), a été utilisée pour l'évaluation approximative de l'histidine pour la première fois par WEISS et SSOBOLEW (137). Plus tard, HANKE et KOESSLER (138) ont élaboré leur méthode colorimétrique de dosage de l'histidine dans les hydrolysats protéiques, basée sur la réaction de TOTANI, et caractérisée par la formation d'une substance colorée chaque fois que cet amino-acide entre en contact en milieu alcalin avec des composés diazoïques.

Pour notre part, nous avons eu recours de préférence à la *technique de JORPES* (139), inspirée de la précédente, mais qui s'adresse plus spécialement — comme dans le cas de l'arginine — à l'histidine contenue dans les précipités phosphotungstiques et dans les éluats de permutation et non dans les hydrolysats où la tyrosine donne également la réaction

de TOTANI. Correctement appliqué, ce procédé permet des dosages relativement exacts, à 5 pour 100 près (note 2).

Résultats obtenus.

Les taux moyens d'histidine calculés d'après le tableau n° VIII sont les suivants (pour 100 ne protéines totales) :

Partie saine = 3,38

Partie tumorale = 3,42 $\left\{ \begin{array}{l} \text{tumeurs bénignes} = 3,55 \\ \text{tumeurs malignes} = 3,29 \end{array} \right.$

En ce qui concerne l'interprétation de ces chiffres, nous ferons les mêmes remarques que pour l'arginine, l'inconstance des réponses interdisant toute conclusion d'ensemble.

V. — LA LYSINE

Parmi les acides diaminés, seules l'arginine et l'histidine bénéficient jusqu'à présent de bonnes méthodes microanalytiques de dosage.

Nous avons indiqué dans les paragraphes précédents les raisons qui nous avaient conduit à choisir : pour l'arginine, une variante de la méthode de SAKAGUCHI proposée par DUMAZERT et Mlle POGGI, et pour l'histidine, la méthode de HANKE et KOSSLER, appliquée suivant la technique de JORPES.

Pour la lysine, par contre, il n'existe aucune méthode microanalytique satisfaisante. On se trouve donc réduit à l'heure actuelle à isoler en bloc les trois diamino-acides, quitte

NOTE 2. — On trouvera une bibliographie très complète de tous les travaux antérieurs relatifs aux méthodes de dosage de l'arginine et de l'histidine dans la thèse récente de BUSSIR (140). On tirera également des documents très intéressants de la monographie de Mlle MOUROT (141) ainsi que d'un article publié par ce dernier auteur en collaboration avec O. HOFFER (142).

ensuite à doser individuellement l'arginine et l'histidine et à évaluer le taux de la lysine par différence.

Cette manière de procéder n'est évidemment acceptable que si le mode de séparation des acides diamminés comporte une rigueur suffisante.

Les méthodes préconisées jusqu'ici dans ce but sont de deux types :

a) La méthode de KOSSEL *et* KUTSCHER (63).

b) Les méthodes de HAUSMANN et de VAN SLYKE (143) (64 et 144).

La méthode de KOSSEL précipite d'une part l'arginine et l'histidine sous forme de sels d'argent et d'autre part la lysine au moyen de l'acide phosphotungstique, puis de l'acide picrique.

À l'opposé de la précédente, les méthodes de HAUSMANN et de VAN SLYKE précipitent d'emblée tous les acides diamminés d'une manière globale par l'intermédiaire de l'acide duodéciphosphotungstique. L'arginine et l'histidine ayant ensuite été isolées et dosées colorimétriquement à partir de leurs phosphotungstates, il est dès lors logique de rapporter à la lysine l'azote demeurant dans le précipité après cette double élimination.

Malheureusement tous les procédés qui viennent d'être décrits se heurtent à des difficultés importantes.

C'est ainsi que la méthode de KOSSEL, assurément la meilleure, est inapplicable à l'échelle microanalytique, car elle nécessite au minimum de 25 à 50 grammes de protéides. De même, la méthode de Mlle MOUROT et HOFFER (1938) (142) exige pour sa part 300 mgr. d'azote au moins.

Quant aux méthodes de HAUSMANN et de VAN SLYKE, on peut leur reprocher leur absence de spécificité et de précision. L'acide duodéciphosphotungstique est susceptible, en effet, de précipiter autre chose que des diamino-acides : il entraîne notamment quelques acides monoaminés parmi les-

quels la cystine mérite une mention particulière. Ces faits apparaissent très clairement à la lecture du tableau ci-dessous où l'on pourra, en outre, constater la grande variabilité du taux de cystine qui vient s'incorporer dans le précipité.

TABLEAU IX

NUMERO des EXPERIENCES		CYSTINE de la PROTEINE	CYSTINE contenue dans le précipité phospho- tungstique	Evaluation du taux précédant p. 100 de cystine totale
21	P S	0.960	0.102	10.6
	P T	0.900	0.109	12.1
22	P S	0.700	0.192	27.4
	P T	0.760	0.207	26.3
23	P S	0.780	0.052	6.6
	P T	1.000	0.061	6.1
24	P S	0.600	0.041	6.8
	P T	0.748	0.049	6.5
25	P S	0.840	0.102	12.2
	P T	0.910	0.191	20.9
26	P S	0.680	0.092	13.8
	P T	0.800	0.087	10.8
27 et 28	P S	0.750	0.140	18.7
	P T	0.770	0.098	12.7
	capsule	0.550	0.090	16.0
29	P S	0.720	0.091	12.6
	P T	0.800	0.087	10.8
30	P S	0.900	0.071	7.8
	P T	1.000	0.086	8.6
31	P S	1.180	0.070	5.9
	P T	1.540	0.092	5.9
32	P S	1.240	0.091	7.3
	P T	1.720	0.097	5.6

Pour avoir le taux exact de l'azote diaminé, on pourrait évidemment défalquer l'azote de la cystine de l'azote total précipité par l'acide phosphotungstique. En réalité, le problème est plus complexe qu'il ne paraît, la précipitation intéressante, outre la cystine, de nombreux autres monoamino-acides sur la nature et la proportion desquels on est encore peu fixé. Par ailleurs, certains auteurs, et en particulier CRISTOL, FOURCADE et BÉNÉZECH (145), ont démontré le rôle important joué au cours des précédentes réactions par les conditions de température.

Ainsi donc, les techniques auxquelles nous faisons allusion n'ont qu'une valeur toute approximative. Par surcroît, elles comportent de longues manipulations qui s'échelonnent sur un minimum de 3 jours, surtout si l'on ajoute le dosage de la cystine à ceux des acides diaminés totaux, de l'arginine et de l'histidine.

Ce sont ces considérations qui nous ont incité à rechercher une technique nouvelle, à la fois plus simple et plus rigoureuse.

a) Principe d'une nouvelle méthode de dosage de la lysine

Nous avons déjà eu l'occasion de rappeler les travaux de CRISTOL et FOURCADE sur le pouvoir fixateur que manifeste la permutite « selon FOLIN » à l'égard des acides aminés en solution aqueuse (104).

Tandis que cette zéolithe adsorbe à peu près totalement les bases hexoniques (93 à 95 pour 100), elle ne retient les acides monoaminés que dans des proportions minimales, c'est-à-dire à des taux toujours inférieurs à 10 pour 100, sauf en ce qui concerne le tryptophane et l'acide glutamique (15 à 15,5 pour 100).

Or, nous venons précisément de démontrer (chapitre III,

p. 106) que le tryptophane est détruit à peu près en totalité et que l'acide glutamique est très fortement attaqué au cours de l'hydrolyse acide, alors que, dans les mêmes conditions expérimentales, les acides diaminés — et en particulier la lysine — ne sont que très faiblement désintégrés.

On peut donc fixer électivement — et de manière à peu près exclusive — les acides diaminés sur la permutite. Aussi, l'emploi de cette dernière substance peut-elle servir de base à une technique nouvelle destinée à assurer la séparation des bases hexoniques d'une solution contenant des amino-acides divers.

Si cette technique est meilleure que les précédentes, elle doit aboutir logiquement à des taux de lysine inférieurs à ceux que donnent les autres procédés, et en particulier celui d'HAUSMANN.

C'est justement ce que vérifient nos résultats (tableau X) (p. 144).

Il ressort tout de suite de ce tableau que les différences entre les chiffres contenus dans les deux dernières colonnes ne sont pas régulières. Ceci est dû à une précipitation plus ou moins importante d'acides monoaminés divers par l'acide duodéciphosphotungstique.

Dans ces conditions, la méthode classique d'HAUSMANN n'est qu'un pis-aller, car elle implique toujours la séparation phosphotungstique et un dosage supplémentaire de cystine.

A priori, la bonne méthode consiste donc à fixer l'azote diaminé sur la permutite, puis à éluer cet azote par le chlorure de sodium et l'acide acétique suivant le procédé habituel de régénération de cette zéolithe. Dès lors, il suffit de doser successivement sur l'éluat l'azote total, l'arginine et l'histidine, puis de calculer la lysine par différence,

TABLEAU X

N° DES EXPERIENCES			LYSINE phospho- tungst.	LYSINE permutée	DIFFE- RENCE p. 100 en fav. du précipité phospho- tungst.	CYS- TINE retenue p. 100
21	{	P. saine	5.21	3.75	28.0	10.6
		P. tumorale	7.26	5.03	30.7	12.1
22	{	P. saine	11.95	5.26	55.9	27.4
		P. tumorale	19.89	9.17	53.8	26.3
23	{	P. saine	7.32	6.57	10.2	6.6
		P. tumorale	12.86	9.33	27.4	6.1
24	{	P. saine	7.48	4.59	38.6	6.8
		P. tumorale	8.67	6.46	25.4	6.5
25	{	P. saine	8.76	7.92	9.5	12.2
		P. tumorale	10.63	10.42	1.9	20.9
26	{	P. saine	8.18	7.30	10.7	13.8
		P. tumorale	10.27	8.86	13.7	10.8
27 et 28	{	P. saine	13.92	13.24	4.8	18.6
		tumeur	12.04	10.74	10.7	12.7
		capsule	13.14	12.20	7.1	16.0
29	{	P. saine	5.26	3.86	26.6	12.6
		P. tumorale	9.02	7.92	12.1	10.8
30	{	P. saine	3.60	2.66	26.1	7.8
		P. tumorale	4.33	3.50	19.1	8.6
31	{	P. saine	15.43	14.70	4.7	5.9
		P. tumorale	12.61	11.31	10.3	5.9
32	{	P. saine	10.06	9.02	10.3	7.3
		P. tumorale	13.24	8.55	35.4	5.6

Est-ce possible ?

En pratique, le problème se ramène aux deux propositions suivantes :

1° Voir si la fixation des acides aminés sur la permutite peut être totale, et dans quelles conditions ce résultat peut être obtenu ;

2° Voir si on a la possibilité d'effectuer complètement l'éluat, et par suite de doser la totalité de l'azote fixé.

A. — *Fixation des acides diamminés.*

1° *Action de la permutite sur des solutions pures d'acides diamminés :*

Voici les données numériques que nous avons recueillies en partant de solutions pures d'arginine et d'histidine :

	Arginine	Histidine
Solutions mères	0,100	0,100
Permutat	traces	traces indosables
Eluat	0,095	0,098
Erreur %	— 4,5	— 2,0

Ces résultats sont donc satisfaisants : on retrouve dans l'éluat la totalité de l'azote fixé sur la permutite, celui-ci représentant lui-même la totalité de l'azote diamminé introduit dans la réaction.

2° *Action de la permutite sur des mélanges d'acides diamminés :*

Nous sommes partis ici d'une solution mère contenant 87 mgr. d'arginine, 77 mgr. d'histidine et 71 mgr. de lysine. Après permutation, nous avons effectué des dosages colorimétriques sur l'éluat :

TABLEAU XI

	ARGININE	HISTI- DINE	LYSINE	N TOTAL
Solutions-mères .	0.087 mg. soit 0.028 N	0.077 mg. soit 0.021 N	0.073 mg. soit 0.014 N	0.063
Permutats	» »	» »	» »	»
Eluats	0.078 mg. soit 0.0251 N	0.07 mg. soit 0.019 N	0.042 mg. soit 0.008 N	0.052
Erreur p. 100 ...	— 4.9 %	— 5.4 %	— 42 %	— 6.3 %

Les résultats sont encore corrects, sauf toutefois en ce qui concerne la lysine.

Mais les liquides d'hydrolyse contiennent des électrolytes et notamment du chlorure de sodium. Or CRISTOL et FOURCADE ont démontré que leur présence nuit à la fixation des acides diaminés. Pour que la réaction de permutation ait toute sa valeur, il faut donc :

a) Soit éliminer les électrolytes ;

b) Soit, tout au moins, arriver à déterminer dans quelle mesure ceux-ci affectent le résultat et faire éventuellement toute correction utile.

a) Pour satisfaire au premier de ces desiderata, nous avons essayé *de chasser au maximum l'acide chlorydrique* contenu dans les hydrolysats, en poussant l'évaporation aussi loin que possible, et en la faisant suivre d'un séjour de 24 heures dans le vide.

Les résultats comparatifs obtenus respectivement après évaporation simple et évaporation prolongée montrent que la seconde éventualité conduit à des erreurs moindres.

TABLEAU XII

	EVAPORATION SIMPLE		DOUBLE EVAPORATION + séjour dans le vide	
	Arginine	Histidine	Arginine	Histidine
Taux initial	4.0	3.0	4.0	3.0
Permutat	0.4	0,28	0.2	0.12
Eluat	3.69	2.57	3.97	2.99
Total retrouvé ...	4.09	2.85	4.17	3.11
Non fixé	10 %	9.3 %	5 %	4 %

Nous retrouvons dans le second cas (évaporation complète) des résultats comparables à ceux obtenus en solution pure, donc satisfaisants dans l'ensemble, aux erreurs d'expériences près (4 à 5 pour 100), lesquelles ne dépassent guère les limites habituellement admises.

b) En ce qui concerne la deuxième éventualité, nous avons envisagé l'influence que peut exercer la concentration en N A C L du milieu sur la fixation des acides diamminés, et cherché à préciser s'il existe une relation constante entre ces deux facteurs de nature à nous permettre d'effectuer une correction.

A cet effet, nous avons réalisé toute une série de permutations sur des amino-acides isolés, placés dans des solutions salées à des concentrations variant entre 2 et 12 pour 1000, ces concentrations représentant les limites extrêmes possibles de la teneur de nos hydrolysats en cet électrolyte.

Nous avons obtenu avec les 3 acides diaminés les chiffres suivants :

TABLEAU XIII

TAUX DES SOLUTIONS de NaCl	NON FIXE POUR 100 :		
	Arginine	Histidine	Lysine
2 p. 1000	2,5	2,2	34,8
4 p. 1000	5,5	4,2	49,1
6 p. 1000	7,5	6,1	49,1
8 p. 1000	10,0	10,5	53,06
10 p. 1000	17,0	18,0	68,9
12 p. 1000	20,0	20,5	68,9

Nous voyons tout de suite que ces résultats, qui sont sensiblement comparables pour l'arginine et l'histidine, deviennent très nettement divergents avec la lysine. Nous avons alors pensé que si l'élution était totale avec les deux premiers amino-acides, elle ne l'était pas pour la lysine dans nos conditions expérimentales.

Nous nous sommes alors proposé d'étudier l'influence que peut avoir le pH sur l'élution effectuée dans les conditions habituelles, c'est-à-dire à l'aide d'une solution saturée de NaCl, puis d'une solution à 2 pour 100 d'acide acétique.

Nous avons pu voir ainsi que les chiffres inscrits à la dernière colonne du bilan précédent devaient être remplacés par les chiffres suivants si l'on opère dans un milieu de Na O H/N ;

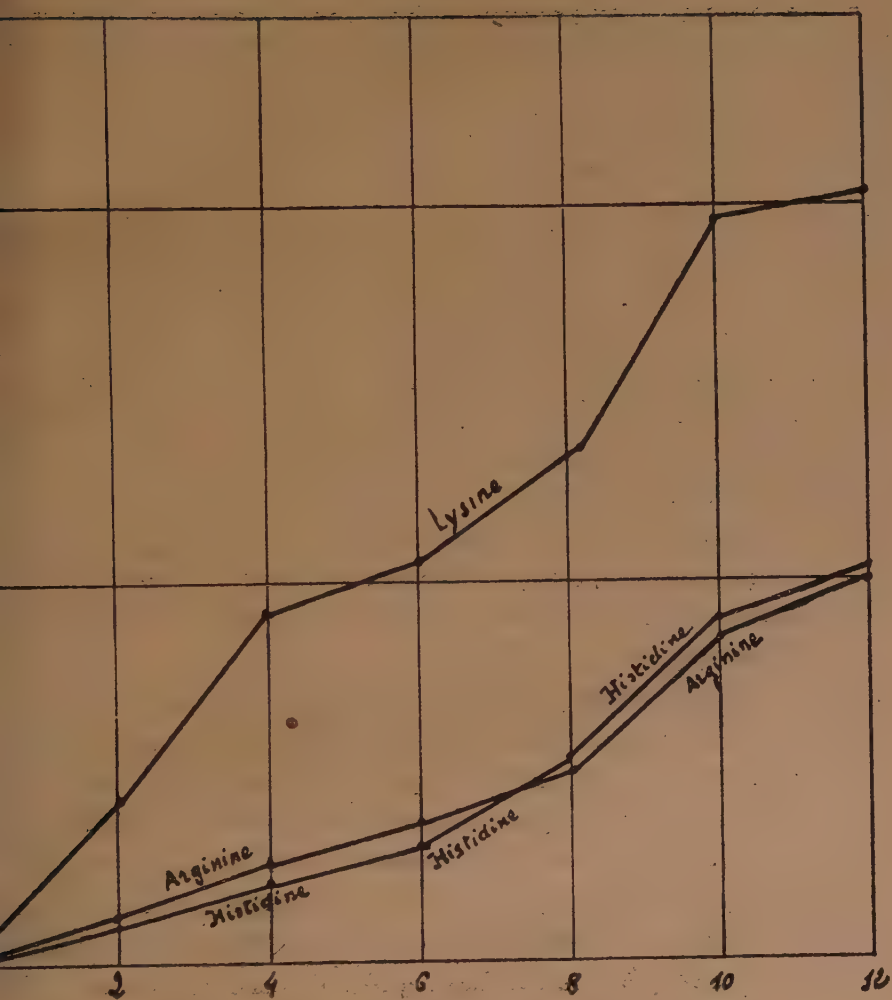


FIG. 9. — Influence exercée par la concentration en NaCl du milieu sur la fixation des bases hexoniques par la permutite (voir tableau XIII), compte tenu du pH (tableau XIII bis).

TABLEAU XIII *bis*

Nacl p. 1000	Lysine non fixée p. 100
2	8,6
4	18,5
6	21,0
8	26,9
10	39,3
12	40,8

Notons à cet égard que les différences entre ces derniers chiffres et ceux obtenus plus haut en milieu neutre expliquent l'importance de l'erreur commise sur la lysine dans le tableau XI.

On peut dans ces conditions établir les 3 courbes ci-jointes correspondant respectivement aux taux d'arginine, d'histiline et de lysine en fonction de la teneur en Nacl du milieu (fig. 9).

De plus, il est possible de vérifier que dans ces conditions la quantité d'azote retrouvée dans l'éluat, augmentée de celle contenue dans le permutat, représente, aux erreurs d'expérience près, la totalité de l'azote introduit.

Par conséquent, il suffira, connaissant la teneur en Nacl de l'hydrolysate (ce qui est réalisable instantanément par la méthode de MOHR ou de CHARPENTIER-WOHLARD), d'effectuer au moyen des courbes reproduites ci-contre la correction rendue nécessaire par l'existence de l'azote non fixé du fait de la présence du chlorure de sodium.

Des expériences ont également été faites sur la gliadine et sur des protéines humaines. Elles ont donné les résultats suivants :

TABLEAUX XIV

1° Gliadine

	ARGININE	HISTIDINE
Taux initial	3,90	1,96
Permutat	0,51	0,21
Eluat	3,32	1,67
Taux retrouvé	3,83	1,88
Nacl p. 1000	9,2	9,2
Erreur expérimentale (note 1)	13,3	11,1
Erreur calculée (note 1)	14,0	15,0

3° Protéines humaines

	n° 27				n° 31			
	ARGININE		HISTIDINE		ARGININE		HISTI- DINE	
	P S	P T	P S	P T	P S	P T	P S	
Taux initial	4.93	4.10	3.70	3.20	4.52	4.67	3.16	
Permutat	0.81	0.59	0.66	0.59	0.61	0.41	0.43	
Eluat	4.07	3.60	2.87	2.54	3.88	3.90	2.61	
Total retrouvé	4.88	4.19	3.53	3.13	4.49	4.31	3.04	
Nacl pour 1000	9.4	9.9	9.4	9.9	8.8	7.9	8.8	
Erreur expériment. .	16.5	14.0	18.7	18.8	13.5	9.5	14.1	
Erreur calculée	15.0	16.6	15.8	17.8	13.2	9.9	13.6	

Ces données numériques montrent que l'erreur expérimentale se tient dans les limites admises et à des taux tout à fait voisins de ceux de l'erreur calculée.

Les faits que nous venons d'exposer constituent une justi-

NOTE 1. — Nous désignons par « erreur expérimentale » celle qui a été réellement effectuée et qui résulte de l'azote non fixé, et par « erreur calculée » celle qui est évaluée d'après les courbes ci-jointes en fonction de la teneur en Nacl du milieu.

fication de notre nouvelle méthode en montrant la légitimité de la correction ainsi effectuée.

Les considérations précédentes nous amènent à résumer de la façon suivante la méthode proposée :

1° Hydrolyse.

2° Elimination de l'erreur due à l'HCl :

- a) soit par double évaporation suivie d'un séjour de 24 h. dans le vide ;
- b) soit par dosage de l'ion Cl et correction de l'erreur commise au moyen des courbes établies pour chaque acide diaminé.

3° Permutation.

4° Elution au moyen de chlorure de sodium saturé dans une solution alcaline Na O H/N qui seule permet une extraction totale de la lysine.

5° Détermination de :

N total par la méthode de KJELDHAL ;

N arginine par la méthode colorimétrique de DUMAZERT et POGGI ;

N histidine par la méthode colorimétrique de JORPES ;

N lysine par la différence :

N total — (N arginine + N histidine).

II. — *Comparaison de la teneur en lysine de la tumeur et du tissu sain correspondant :*

Il ressort du tableau n° VIII que, d'une manière générale, la teneur en lysine est plus élevée dans le tissu tumoral que dans le tissu sain formateur, quelle que soit la méthode em-

ployée (précipitation phosphotungstique ou permutation), et quelle que soit la nature de la tumeur examinée.

C'est ainsi que notre méthode de permutation nous fournit, pour la lysine, les moyennes suivantes :

Pour les tissus sains : 7,17 contre 8,62 pour les tumeurs.

Pour les néoformations bénignes : 9,5 contre 7,75 pour les néoformations malignes.

Ces constatations prennent un certain intérêt si l'on se souvient les quelques notions que nous venons de rappeler au début de ce même chapitre concernant le rôle physiologique spécial de la lysine. Nous avons vu, en effet, que les travaux antérieurs d'OSBORNE et de MENDEL, puis ceux de COURRIER et COSTES — pour ne citer que les plus connus — font de cet amino-acide un facteur important de la croissance et de la multiplication cellulaires. L'augmentation de son taux au cours du développement tumoral s'explique donc fort bien et nous pourrions renouveler ici les quelques remarques déjà faites au sujet de la cystine.

Quant à l'élévation relative, paradoxale en apparence, du taux de la lysine dans les tumeurs bénignes par rapport aux tumeurs malignes, elle semble pouvoir être attribuée au volume particulièrement considérable atteint par les léiomyomes utérins auxquels nous nous sommes adressés.

JUSTIFICATION DES MÉTHODES DE DOSAGE COLORIMÉTRIQUE

EMPLOYÉES AU COURS DE CE CHAPITRE

Nous avons déjà indiqué précédemment (chap. II, p. 101) quelques expériences destinées à vérifier la valeur de la méthode des permutations pour apprécier la teneur en acides diaminés d'un protéide donné. A cet effet, nous nous étions adressés à la gélatine et à la gliadine.

Pour faire suite à ces recherches, nous avons opéré à nouveau sur ces mêmes échantillons afin de contrôler l'exactitude des méthodes colorimétriques que nous avons choisies.

Voici les résultats que nous avons obtenus (évaluations faites pour cent de protéines totales :

TABLEAU XV

ACIDES AMINES	GELATINE		GLIADINE	
	Valeurs classique- ment admises Cristol (107)	Valeurs trouvées	Valeurs classique- ment admises Cristol (107)	Valeurs trouvées
Cystine	0.17	0.23	2.40	2.31
Tryptophane	0.00	0.00	0.80	0.83
Arginine	9.10	8.70	3.20	3.90
Histidine	0.90	1.30	2.10	1.95
Lysine	5.90	5.68	0.60	0.52

On voit à la lecture de ce tableau que les chiffres que nous avons enregistrés se rapprochent de près des chiffres couramment admis et en particulier de ceux qui sont indiqués par le Professeur CRISTOL d'après les données les plus acceptables. Les méthodes d'analyse que nous avons utilisées peuvent donc être considérées comme offrant des garanties suffisantes.

CONCLUSIONS D'ENSEMBLE DU CHAPITRE

Si nous essayons de dégager de l'ensemble de ce chapitre les quelques conclusions générales d'ordre physio-pathologique qui en découlent, nous aboutissons aux notions suivantes :

Les « *acides aminés dits d'entretien* » ne sont que peu modifiés dans leur taux au cours de la dégénérescence tumorale d'un tissu. C'est ainsi que l'arginine et l'histidine présentent des variations légères et dans des sens parfois opposés. De même le tryptophane subit un accroissement discret et au surplus inconstant.

Par contre, les « *amino-acides de croissance* » que nous avons étudiés, c'est-à-dire la cystine et la lysine, *accusent dans les tumeurs des valeurs particulièrement élevées* et il est possible de se demander si ce facteur n'intervient pas pour une part dans l'accélération du rythme des mitoses et dans les phénomènes d'hyperplasie tissulaire. Il resterait d'ailleurs à déterminer si ces perturbations que nous venons d'indiquer proviennent d'une fixation élective par les tumeurs de principes directement empruntés au milieu extérieur, ou si elles ne résultent pas plus simplement d'un « transfert » des amino-acides intéressés à partir des organes sains vers le tissu pathologique.

Au cours de ces recherches, nous avons fait appel aux méthodes colorimétriques pour le dosage de l'arginine, de l'histidine, de la cystine et du tryptophane. Mais, pour apprécier le taux de la lysine, nous avons été amené à proposer une nouvelle méthode d'évaluation différentielle de ce mono-peptide basée sur le principe des réactions de permutation.

CHAPITRE VI

APPLICATION DES RECHERCHES PRECEDENTES AU CAS DES TUMEURS EXPERIMENTALES

Nous avons vu, au cours d'un chapitre antérieur, que le cancer peut être transmis à l'animal, dans certaines conditions, par inoculation et surtout par greffe. Il nous a paru intéressant d'étudier la structure chimique de ces tumeurs expérimentales, afin de voir si elle peut être comparée à celle des tumeurs spontanées de l'homme, les seules que nous ayons envisagées jusqu'à présent. Nous nous sommes adressés dans ce but à la néoplasie désignée communément sous le nom de « *tumeur de FLEXNER-JOBLING* ».

Cette lésion, décrite pour la première fois en 1907, a été considérée tout d'abord par FLEXNER et JOBLING comme un sarcome à cellules polymorphes *du rat* (146 et 147). Plus tard, en 1910, à la suite de recherches plus précises, les mêmes auteurs (148) ont été amenés à penser qu'il s'agissait en réalité, non d'un sarcome, mais bien plutôt d'une *tumeur glandulaire des vésicules séminales*, dont l'aspect rappelle par bien des points celui de l'adéno-carcinome humain. Depuis lors, cette néoformation épithéliale a été utilisée maintes fois pour des greffes. C'est ainsi que, dans son laboratoire d'anatomie pathologique du Centre anticancéreux de Mont-

pellier, M. le professeur GRYNFELTT a pu réaliser par ce moyen nombre de passages successifs sur des rats albinos.

Les transplantations ont été effectuées suivant la méthode « du fragment », introduit parfois « au trocart », plus souvent « à la pince », dans une petite incision cutanée pratiquée au bistouri, puis obturée à l'aide d'une agrafe de MICHEL. En cas de réussite, la tumeur devenait manifeste du 12^e au 15^e jour, rarement plus tard. Par la suite, elle croissait régulièrement jusqu'à atteindre au bout de quelques jours le volume d'une noisette (149). C'est sur des prélèvements pratiqués sur ces masses néoplasiques que nous avons opéré nos recherches.

Les techniques auxquelles nous avons recouru ont été *en tous points calquées* sur celles que nous avons déjà décrites à propos des tumeurs humaines.

RÉSULTATS OBTENUS

1^o Dosage titrimétrique des amino-acides par la recherche de « l'indice-formol ».

Les chiffres que nous avons trouvés sur 5 tumeurs différentes ont été reproduits dans le tableau ci-dessous (hydrolyses réalisées à l'autoclave ; résultats exprimés en grammes d'azote et rapportés à 100 grammes de protéines humaines).

TABLEAU XVI

DUREE de l'expérience	Tumeur N° 33	Tumeur N° 38	Tumeur N° 39	Tumeur N° 40	Tumeur N° 41
20 minutes	6,70	6,65	6,70	6,70	6,70
40 minutes	7,60	7,60	7,75	7,95	7,75
3 heures	8,50	8,50	8,70	8,85	8,85
4 h. 30	8,50	»	8,60	»	8,85

Les courbes obtenues — lesquelles sont à peu près identiques pour les 5 tumeurs étudiées — ont sensiblement le même profil que celles que réalisent les tumeurs spontanées de l'homme. On peut donc faire, en ce qui les concerne, les mêmes remarques que pour ces dernières. On notera pour l'une d'elles (n° 39), une légère chute terminale du tracé vers 4 h. 30, phénomène sur lequel nous nous sommes déjà expliqués (voir p. 78-79). Dans tous les cas, la réaction du biuret s'est également négativée au delà de 40 minutes de séjour à l'autoclave.

2° Dosage des composants chimiques des protéines tumorales après hydrolyse totale par les acides forts.

Les résultats auxquels nous sommes parvenus sur ce point figurent sur les deux tableaux qui suivent (hydrolyse de 3 h. à l'autoclave à 140° en présence d'HCL à 20 pour 100) :

TABLEAUX XVII

a) Tableau des chiffres rapportés à 100 mg de protéines totales.

	N total	N humique	N ammoniacal	N acide diamin.	N acide mono-aminés
Tumeur n° 33	14.00	2.35	0.60	3.35	7.70
Tumeur n° 35	14.80	4.17	0.88	3.25	6.50
Tumeur n° 36	14.74	3.81	0.80	3.13	7.00
Tumeur n° 38	14.20	2.75	0.85	3.30	7.30
Tumeur n° 39	14.17	2.87	0.86	3.50	6.94
Tumeur n° 40	14.28	2.92	0.61	3.10	7.65
Tumeur n° 41	14.90	3.05	0.60	3.25	8.00

b) Tableau des chiffres évalués en p. 100 d'azote total.

	N humique	N ammo- niacal	N aminé total	N acides diamin.	N acides mono- aminés
Tumeur n° 33	16.80	4.30	78.90	23.90	55.00
Tumeur n° 35	28.18	5.95	65.87	21.95	43.92
Tumeur n° 36	25.85	5.42	68.73	21.25	47.48
Tumeur n° 38	19.36	6.00	74.64	23.24	51.40
Tumeur n° 39	20.25	6.07	73.68	24.70	48.98
Tumeur n° 40	20.45	4.27	75.28	21.70	53.58
Tumeur n° 41	20.47	4.02	75.51	21.81	53.70

Nous serons, ici encore, très bref de commentaires. Ces tableaux traduisent clairement l'identité de structure qui existe entre les protéines des tumeurs expérimentales et humaines. Nous retrouvons pour toutes les colonnes le même ordre de grandeur dans les chiffres. Ces derniers se rapprochent toutefois d'une façon toute particulière de ceux qui figurent à la rubrique des néoplasies malignes : ce fait — qu'il est intéressant de souligner — est loin de nous surprendre si l'on s'en rapporte à la constitution histologique de ces tumeurs telle qu'elle a été rappelée ci-dessus. On notera, en outre, une sorte de fixité dans la composition chimique de ces épithéliomas de FLEXNER-JOBLING, fixité qui ressort nettement de la comparaison des 5 tumeurs entre elles.

3° Etude de la structure des protéines tumorales par la méthode des hydrolyses ménagées,

Nous avons réalisé sur cinq tumeurs différentes des hydrolyses partielles à l'autoclave et voici les bilans obtenus, comparés à ceux de l'hydrolyse totale (évaluation en p. 100 d'azote total) :

TABLEAUX XVIII

TUMEUR N° 33

	Après 20' d'autoclave	Après 40' d'autoclave	Après 3 h. d'autoclave
N non aminé et hu- mique	36.07	31.07	16.80
NH ³	1.43	2.50	4.30
N acides diaminés ...	28.57	27.15	23.90
N acides monoaminés	33.93	39.28	55.00

TUMEUR N° 38

	Après 20' d'autoclave	Après 40' d'autoclave	Après 3 h. d'autoclave
N non aminé et hu- mique	29.60	24.30	19.36
NH ³	8.10	6.35	6.00
N acides diaminés ...	27.45	25.35	23.24
N acides monoaminés	34.85	44.00	51.40

TUMEUR N° 39

	Après 20' d'autoclave	Après 40' d'autoclave	Après 3 h. d'autoclave
N non aminé et hu- mique	39.66	29.78	20.25
NH ³	3.88	4.24	6.07
N acides diaminés ...	27.52	28.58	24.70
N acides monoaminés	28.94	37.40	48.98

TUMEUR N° 40

	Après 20' d'autoclave	Après 40' d'autoclave	Après 3 h. d'autoclave
N non aminé et hu- mique	27.54	25.56	20.45
NH ³	0.70	4.42	4.27
N acides diaminés ...	28.40	23.10	21.70
N acides monoaminés	43.36	46.92	51.58

TUMEUR N° 41

	Après 20' d'autoclave	Après 40' d'autoclave	Après 3 h. d'autoclave
N non aminé et hu- mique	23.82	21.55	20.47
NH ³	7.94	9.00	4.02
N acides diaminés ...	25.62	20.80	21.81
N acides monoaminés	42.62	48.65	53.70

Ces tableaux démontrent de façon très nette qu'au cours des opérations d'hydrolyses ménagées, on assiste dès le début à une libération globale des bases hexoniques, cependant que les monoamino-acides ne se dégagent que peu à peu et par fractions successives. Ultérieurement, une certaine quantité d'acides diaminés disparaît de l'hydrolysât, cette résorption pouvant être attribuée, pour une part, à une désamination avec formation de NH³ en supplément, pour une autre part, à une transformation en acides monoaminés.

Ce sont là exactement les conclusions que nous avons déjà formulées lors de l'étude correspondante des tumeurs spontanées de l'homme.

4° Dosage de quelques amino-acides fondamentaux.

On trouvera dans le tableau ci-après les résultats obtenus sur 4 tumeurs de FLEXNER-JOBLING, par application à ces tumeurs des méthodes de dosage déjà décrites pour l'arginine, l'histidine, la lysine, la cystine et le tryptophane (voir chap. V, pp. 130 et suivantes).

TABLEAU XIX

	Tumeur N° 34	Tumeur N° 37	Tumeur N° 42	Tumeur N° 43
Azote des hydrolysats avant permutation	10.24	10.32	10.83	10.72
Azote des hydrolysats après permutation	(1) 6.60	6.72	7.40	7.20
Azote diaminé total calculé d'après la méthode des permutations	3.64	3.60	3.43	3.52
Azote diaminé total phosphotungstique	3.76	3.58	3.70	3.76
Arginine	1.68	1.72	1.80	1.75
Azote de l'arginine	0.539	0.552	0.578	0.561
Histidine	1.32	1.22	1.48	1.44
Azote de l'histidine	0.357	0.330	0.401	0.390
Cystine totale	1.22	1.32	0.860	1.10
Cystine contenue dans le précipité phosphotungstique ..	0.0018	0.0020	0.0022	0.0021
Lysine calculée par la méthode des permutations ...	14.29	14.16	12.77	13.39
Azote de cette lysine	2.74	2.718	2.45	2.57
Lysine calculée dans le précipité phosphotungstique ..	15.01	14.02	14.15	14.62
Azote de cette lysine	2.882	2.696	2.719	2.807
Tryptophane	2.20	2.00	2.10	2.075

Nous n'insisterons pas dans l'interprétation de ces chiffres sur certains faits que nous avons déjà envisagés et notamment sur les différences qui existent entre les taux des acides aminés, suivant que l'on s'adresse à la méthode des permutations ou à la précipitation phosphotungstique. Nous nous sommes déjà expliqués sur ce point au cours d'un chapitre antérieur (voir chapitre V, pp. 141 et 144).

NOTE 1. — Evaluations faites en fonction de prises d'essai de 100 mgr. de poudres de protéines tumorales.

Ces dernières observations relatives aux tumeurs de FLEXNER-JOBLING nous paraissent présenter un certain intérêt du point de vue de la physio-pathologie générale. Il se trouve, en effet, que parmi les trois éléments dont le taux se montre notablement accru, se placent précisément deux facteurs importants de croissance, à savoir la lysine et la cystine. Or, cet accroissement se manifeste, non seulement par comparaison avec la teneur habituelle des tissus sains — fait qui nous est déjà connu — mais encore vis-à-vis des tumeurs spontanées de l'homme. Peut-on admettre un lien entre le taux élevé en amino-acides de croissance dans les épithéliomas de FLEXNER-JOBLING d'une part, et d'autre part le développement extrêmement rapide des greffes, lesquelles édifient, comme nous l'avons vu, des masses néoplasiques importantes en l'espace de quelques jours ? Encore que le métabolisme des acides aminés comporte, à l'heure actuelle, bien des points obscurs nous incitant à beaucoup de prudence, nous avons pensé qu'un tel rapprochement n'était pas illogique.

En définitive, la structure chimique des tumeurs de FLEXNER-JOBLING présente, dans ses grandes lignes, le même aspect que celle des tumeurs spontanées humaines ; toutefois, les premières paraissent être particulièrement riches en amino-acides de croissance, facteur en relation possible avec l'extension extrêmement rapide de ces néoformations.

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES

Après avoir rappelé les publications déjà parues relatives à la chimie des protides au cours de l'évolution tumorale, nous avons exposé nos recherches personnelles touchant plus spécialement au mode de constitution de la molécule protéique à l'intérieur des tissus de néoformation.

Nous allons résumer ci-après l'ensemble de nos travaux, dans l'ordre même où nous les avons conduits, et nous indiquerons, pour terminer, les conclusions générales auxquelles nous sommes parvenus.

I. — L'application de la méthode de la « formol-titration de SÖRENSEN » à toute une gamme d'hydrolysats protéiques obtenus en milieu acide, après des temps progressivement croissants de séjour à l'autoclave, nous a permis d'aboutir aux constatations suivantes :

— L'hydrolyse s'opère toujours suivant le même rythme, quelle que soit la nature de la protéine mise en cause, ainsi que le démontrent les courbes hydrolytiques que nous avons relevées ;

— Ces courbes ont le même profil, qu'il s'agisse de la tumeur ou du tissu sain qui lui a donné naissance, ce qui semble indiquer que, de part et d'autre, la libération des amino-acides à partir des tissus hydrolysés s'effectue de manière sensiblement égale et parallèle.

On peut donc conclure de cette première série d'expériences — laquelle porte sur un ensemble de 14 pièces opératoires — à une véritable *identité entre le tissu sain et le tissu de néoformation*, en ce qui concerne tout au moins le *mode d'assemblage* et le *degré d'union* des éléments constitutifs.

II. — La seconde série de recherches a eu pour objet d'étudier, non plus le mode d'assemblage des éléments tissulaires, mais *leur nature même*, lorsque l'hydrolyse parvenue à son stade maximum a réussi à les libérer en totalité.

La technique consiste alors à soumettre les prises d'essai à l'action de l'autoclave à 140° pendant 3 heures en présence d'Hcl à 20 pour 100, à chasser les matières humiques et l'ammoniaque, et à filtrer sur « *permutite* » le liquide clair obtenu, *de manière à isoler les acides diaminés des acides monoaminés*. Les dosages d'azote sont effectués après chaque temps, suivant la méthode de PREGL.

Les expériences, répétées sur un lot de 20 tumeurs, ont abouti aux résultats suivants:

— Le taux de l'azote total contenu dans les prélèvements se rapproche toujours du chiffre théorique classique de 16 p. 100;

— Les taux d'azote humique sont un peu plus forts et les taux d'azote ammoniacal un peu moins élevés dans l'ensemble que ceux qu'il est habituel de rencontrer à la lecture des travaux des divers auteurs, sans doute par suite de la brutalité du mode d'hydrolyse auquel nous avons fait appel;

— Si l'on compare maintenant les valeurs trouvées pour les acides diaminés et pour les acides monoaminés, on s'aperçoit qu'une distinction doit être immédiatement faite entre les tumeurs bénignes et les tumeurs malignes.

Dans les tumeurs malignes on observe en effet constamment une augmentation du taux des acides diamminés dans le tissu pathologique par rapport au tissu sain, cet excès se trouvant compensé par une diminution corrélative de la proportion des acides monoaminés. Par contre, *dans les tumeurs bénignes*, c'est l'inverse qui se produit (diminution relative du taux des acides diamminés dans la tumeur, avec accroissement des mono-amino-acides).

Ces résultats sont en plein accord avec les travaux antérieurs (Osborne et Mendel, Kocher, Rous, etc.) en ce qui concerne les néoplasies malignes; *ils sont au contraire d'un ordre nouveau pour ce qui a trait aux processus bénins.*

Doit-on émettre pour cela l'hypothèse d'une différence profonde de texture entre la molécule protéique tumorale et la molécule saine d'une part, entre le tissu cancéreux et le tissu des néoformations bénignes d'autre part? Nous ne le pensons pas. D'ailleurs, les écarts enregistrés demeurent toujours très faibles (d'un ordre inférieur à 10 p. 100).

III. — On peut se poser la question de savoir quelle est la *part individuelle* que prennent les divers amino-acides connus dans la formation des matières humiques et de l'ammoniaque, ainsi que dans l'interprétation de « l'indice-formol ».

Pour répondre à cette question, il suffit de soumettre à la série des épreuves précédentes un certain nombre d'amino-acides reconnus chimiquement purs (et que l'on peut se procurer dans le commerce).

Nos travaux sur ce point ont abouti à une classification des mono-peptides en trois catégories : ceux qui donnent autant d'azote humique que d'azote ammoniacal; ceux qui donnent surtout de l'azote ammoniacal; enfin ceux qui donnent surtout de l'azote humique.

Dans ce dernier groupe, il convient de citer le *tryptophane*, lequel se trouve à peu près intégralement transformé en matières humiques après l'hydrolyse totale.

IV. — Nous avons déjà recueilli au cours du premier chapitre un aperçu sur le mode d'assemblage et le degré d'union des éléments constitutifs de la molécule protéique dans les tissus sains et tumoraux, grâce à la détermination de « l'indice-formol ».

Nous avons par ailleurs indiqué tout au long au chapitre II une technique destinée à réaliser l'hydrolyse complète de cet édifice protéique.

Dès lors, il nous a paru possible, en procédant à des hydrolyses semblables mais *fractionnées*, d'identifier l'ordre dans lequel se libèrent successivement les différents éléments intégrés dans cet édifice. Nous avons espéré par ce moyen acquérir des notions nouvelles concernant *le degré de cohésion des matériaux mis en cause*.

Des expériences réalisées sur dix tumeurs, il résulte effectivement que l'on assiste dans l'ensemble à une libération rapide des acides diaminés (dès vingt minutes d'autoclave elle est acquise), alors que dans les mêmes conditions le détachement des acides monoaminés est plus lent et s'opère par échelons successifs. Peut-être peut-on tirer de ces faits des déductions quant à la constitution intime de la molécule protéique (existence d'un « noyau central » fixe et de chaînes latérales labiles, conformément à l'hypothèse émise par Cahn et Bonot comme suite aux travaux de KOSSEL).

V. — Jusqu'ici nous n'avons envisagé que les variations *globales* présentées par les acides diaminés et les acides monoaminés lors du développement des tumeurs. Il nous

a paru intéressant de compléter ces données par l'étude de quelques-uns de ces mono-peptides considérés *isolément*.

Nous avons choisi pour ces recherches: l'arginine (méthode de Dumazert), l'histidine (technique de Jorpes), la cystine (technique de Marenzi) et le tryptophane (technique de Komm et de Böhringer).

Nous y avons joint *une technique nouvelle d'évaluation de la lysine par « procédé différentiel », en utilisant à cet effet la méthode des permutations*. Il nous est apparu que ce moyen permettait d'obtenir, dans certaines conditions que nous avons par ailleurs indiquées, une séparation des bases hexoniques plus précise qu'avec la précipitation phosphotungstique.

Nos conclusions sur ce point sont les suivantes:

— L'arginine, l'histidine et le tryptophane ne subissent que des variations légères et dans des sens inconstants.

— Par contre, les taux de cystine et de lysine sont nettement et constamment augmentés dans les tissus tumoraux.

Si l'on considère que ces deux amino-acides interviennent directement dans les *phénomènes de croissance*, on voit les conclusions importantes que l'on peut tirer de ces constatations dans le domaine de la physio-pathologie générale.

VI. — Enfin, nous avons renouvelé toutes nos expériences sur des *tumeurs expérimentales de Flexner-Jobling*, sortes d'épithéliomas atypiques du rat, facilement transmissibles par greffe.

Les résultats enregistrés furent en tous points superposables à ceux que nous avons déjà obtenus sur les tumeurs de l'homme. Ceci semble indiquer une *identité parfaite de comportement entre les néoformations spontanées et expérimentales*, tout au moins en ce qui concerne les divers points de vue auxquels nous nous sommes placés.

On note seulement dans les tumeurs de Flexner-Jobling une *teneur particulièrement élevée en amino-acides de croissance*, ce fait paraissant en rapport avec le développement extrêmement rapide des néoplasies provoquées.

*
**

Tels sont les résultats de nos recherches concernant *le métabolisme des protides dans les tumeurs*. On voit que notre but a été avant tout de préciser l'aspect, en même temps que le mode d'agencement, des divers matériaux qui servent à l'édification de la charpente moléculaire au cours de ces états pathologiques. Sur ce point, nous sommes amenés à cette conclusion essentielle *que le tissu sain et le tissu néoformé se comportent sensiblement de la même manière*. Autrement dit, il n'existe pas dans la texture de l'un et l'autre de différences fondamentales — seules certaines proportions se trouvent faussées du fait de la dégénérescence tissulaire, que celle-ci soit bénigne ou maligne.

Tout se passe donc comme si les tumeurs, pour s'édifier, devaient faire appel aux ressources locales offertes par les organes où elles prennent naissance, quitte ensuite à les « *aménager* » à leur gré et à les élaborer suivant leurs convenances propres.

En définitive, il ressort de l'ensemble de nos observations *qu'il ne paraît pas y avoir à proprement parler dans les tumeurs de protéines spécifiques (au sens chimique du terme)*, contrairement à une opinion émise par certains auteurs. Le problème pathogénique des néoplasies ne saurait donc être résolu dans le sens d'une variation fondamentale dans l'équilibre protéique des tissus.

BIBLIOGRAPHIE (1)

- (11) ABDERHALDEN (E.). — Partielle hydrolyse, einiger Protéine. *Zeitschr. f. physiol. chemie*; 1909, 58, 373-389.
- (71) ABDERHALDEN (E.) et MÉDIGRECEANU (F.). — Beitrag zur Kenntnis der Bausteine der Zellen in Tumoren. *Ztschr. f. physiol. chemie*; 1910, 69, 65.
- (37) ACHARD (Ch.), BARIETY (M.) et CODOUNIS (A.). — L'équilibre protéinique du sérum sanguin dans les tumeurs cérébrales. *C. R. Soc. Biol.*, 1930, 105, 346.
- (100) ACHARD (Ch.), LEVY (J.) et MARYNOWSKY (T.). — Sur l'azote non protéique du sérum. *C. R. Soc. Biol.*; 1932, 111, 256-258.
- (69) ASCHER (E.). — Chemische Untersuchungen über den Krebs. *Diss. inaug. Berlin*, 1907.
- (77) BANG (J.). — Chemische Untersuchungen der lymphatischen Organe. *Hofmeister's Beitr.*; 1903, 4, 331-332.
- (86) BAYERLÉ (H.) und PODLOUCKY (F. H.). — Zur Frage der Vorkommens von d. Peptidasen in normalen und carcinoma-tösen Organen. *Biochem. Ztschr.*; 1904, 304, 259-265.
- (87) BAYERLÉ (H.) und PODLOUCKY (F. H.). — Zur Frage des Vorkommens von Sterischauslesenden Enzymen in Carcinomatösen Organismus. *Ztschr. physiol. chem.*; 1940, 264, 189-195.
- (Voir réponse de Waldschmidt-Leitz et Hatschek, *ibid.* pp. 196-197: « Bemerkungen zur vorstehenden Arbeit von H. Bayerlé und F. H. Podloucky. »)
- (43) BEEBE (S. P.). — The chemistry of malignant growth. II. The inorganic constituents of tumors. *Amer. J. of physiol.*; 1901-1905, t. 11-12-13.
- (118) BENNETT (M. A.). — A quantitative study of the replaceability of cystine by various sulfur-containing amino-acids in the diet of the albino rat. *J. of Biol. chem.*; 1938, 123, Proc. VIII.

(1) Dans les références ci-après, parmi les nombres qui succèdent au titre de la publication, le premier indique l'année, le second le tome et les suivants les pages auxquels le lecteur est prié de se reporter.

- (60) BERGELL (P.). — Zur chemie der krebsgeschwülste. *Ztschr. f. Krebsf.*; 1907, 5, 204-208.
- (68) BERGELL (P.) und DÖRPINGHAUS (Th.). — Zur chemie der Krebsgeschwülste. Soc. de Méd. int. Berlin; 10 juillet 1905. *Deut. medicin. Woch.*; 1905, n° 36.
- (32) BINET (L.). — Le glutathion dans le sang chez divers malades et en particulier chez les cancéreux. *Bull. Acad. de Méd.*; 1941, 125, 61-63.
- (112) BONOT (A.). — Contribution à l'étude de la constitution des protéides. *Thèse Doct. es. Sc.* Paris, février 1934.
- (119) BRAND (E.). — Growth response to sulfure amino-acids. *J. Of. Biol. chem.*; 1938, 123, Proc. XV-XVI.
- (28) BULLIARD (H.) et GRUNDLAND (I.). — Hyperpolypeptidémie et croissance des tumeurs. *C. R. Soc. Biol.*; 1939, 131, 889.
- (140) BUSSIT (J.). — Recherches analytiques sur l'arginine et l'histidine. *Actualités scientif. et industrielles*; n° 272. — Hermann et Cie édit., Paris, 1935.
- (91) CAHN (Th.). — Recherches de physiologie générale sur les variations des équilibres des constituants cellulaires au cours du développement embryonnaire et du jeûne. — Constitution et évolution de la molécule des protides. — *Thèse de Doct. es Sc.*, Paris, juin 1928, Doin édit.
- (47) CARINI (F.). — Sui Nucléo-protéidi del cancro; contributo alla patogenesi della cachessia cancerigna. — *Il Morgagni*, 1904, 46, 310-324.
- (16) CHATAIN (A.). — Contribution à l'étude du métabolisme des cancéreux (métabolisme des corps azotés et des hydrates de carbone, glutathion du sang). *Journ. méd.* Lyon; 1930, 11, 507-513.
- (73) CHIBNALL (A. C.), REES (M. W.), WILLIAMS (E. F.) et BOYLAND (E.). — L'acide glutamique des protéines des tissus tumoraux et cancéreux. *Biochem. J.*; 1940, 34, 285-300.
- (5) CODOUNIS (A.). — Le syndrome humoral au cours de l'évolution du cancer, *Paris-Méd.*; 1932, 83, 457.
- (130) COLE (S. W.). — On certain colour reactions of proteid due to tryptophane. *J. of. Physiol. London*; 1903, 30, 310-318.
- (117) CORLEY (R. C.), WOLF (P. A.) and NIELSEN (E. K.). — The amino-acids essential for the adult animal. *J. Of. Biol. chem.*; 1938, 123, Proc. XXVI.
- (114) COURRIER (R.) et COSTE (G.). — Acides aminés indispensables à la croissance et cancer. *C. R. Soc. Biol.*; 1934, 115, 631.
- (98) CRISTOL (P.). — Etude sur la désalbumination du sang et des humeurs en vue du dosage de l'azote total non protéique et son exploration en physiopathologie. — Maloine, édit., Paris, 1926.

- (99) CRISTOL (P.). — Nouvelles études sur la désalbumination du sang en vue du dosage de l'azote total non protéique et de la détermination de l'indice de polypeptidémie. *Bull. Soc. chim. biol.*; 1929, 11, 92-110.
- (107) CRISTOL (P.). — Précis de chimie biologique médicale. Collection des Précis médicaux. Masson et Cie, édit., Paris, 1935.
- (104) CRISTOL (P.) et FOURCADE (J.). — Action de la permutite sur quelques acides aminés en solution aqueuse. *Bull. Soc. Chim. France*; 1938, 5, 21.
- (145) CRISTOL (P.), FOURCADE (J.) et BÉNÉZECH (C.). — Etude comparative des pouvoirs précipitants et désalbuminants des acides lûtéophosphotungstique et duodéciphosphotungstique. *Trav. des membres Soc. chim. biol.*; 1941, 23, 1106-1113.
- (108) CRISTOL (P.), MONNIER (P.) et MAROT (R.). — Effets du chauffage en milieu acide à l'autoclave sur les divers acides aminés. *Travaux des membres de la Soc. chim. biol.*; 1942, 24, n° 4, p. 1412-1417.
- (106) DRUMMOND (J. C.). — A study of the distribution of nitrogen in the proteins of tumours and normal tissues. *Biochem. J.*; 1916, 10, 473-494.
- (135) DUMAZERT (Chr.) et POGGI (Mlle R.). — Sur le microdosage colorimétrique de l'arginine et de divers dérivés guanidiques monosubstitués. *Bull. Soc. chim. biol.*; 1939, 21, 1381-1387.
- (46) DUSTIN (A. P.). — a) Cancer et hérédité. *Bruxelles médical*; 1924, 2, 362; b) Les bases cyto-physiologiques nécessaires à l'étude du cancer. *Bull. Soc. Sc. Méd. et Nat. de Bruxelles*; 1924, n° 3, 4 et 5.
- (22) DUVAL (P.), ROUX (J.) et GOIFFON (R.). — Essai sur l'intoxication par les polypeptides. *Presse Méd.*; 1934; n° 91, 1785-1787.
- (94) ENSELME (J.). — La molécule protidique. Contribution à son étude chimique. *Thèse doct. es Sc.*; Edit. du Serv. Photographique de l'Univers; Lyon, 1930.
- (53) ESTRADE (F.). — Contribution à l'étude du philothion. *Thèse doct. méd.* Toulouse, 1928.
- (74) FASAL (H.). — Ueber den tryptophangehalt normaler und pathologischer Hautgebilde und maligner Tumoren. *Biochem. Ztschr.*; 1913, 55, 88-95.
- (7) FILINSKY (W.). — L'augmentation du taux de la globuline dans le sérum du sang comme résultat de l'insuffisance hépatique. *Presse méd.*; 1922, n° 22, 236.

- (146) FLEXNER (S.) et JOBLING (J.). — a) Métast. sarcoma of the rat; *Americ. méd. J.*; 1907, 12, 554.
 b) Infiltrierendes und métastasenbildendes Sarkom der Ratte. *Zbl. Pathol.*; 1907, 18, 257.
- (147) FLEXNER (S.) et JOBLING (J.). — Studies upon a transpl. rat. tumor-monogr. *Rockefeller Inst. Méd. Res.*; 1910, 1, 8.
- (124) FOLIN (O.) and LOONEY (J. M.). — Colorimétric methods for the separate détermination of tyrosine, tryptophane and cystine in proteins. *Journ. of. biol. chem.*; 1922, 51, 421-434.
- (123) FOLIN (O.) and MARENZI (A. D.). — Improved colorimétric method for détermination of cystine. *Journ. of. biol. chem.*; 1929, 83, 103-108.
- (103) FOURCADE (J.). — Recherches sur la composition du « double azote ». *Thèse doct. méd.* Montpellier, 1939, n° 72; Imprim. de la Charité.
- (126) FURTH (O.) and LIEBEN (F.). — Colorimétrische untersuchungen über das Tryptophan. *Biochem. Zs.*; 1920, 109, 124-152.
- (127) FURTH (O.) and NOBEL (E.). — Colorimétrische untersuchungen über das tryptophan. *Biochem. Zs.*; 1920, 109, 103-123.
- (110) GAWRILOW (N. I.), ELAGUINA (N. W.), DOUDYKINA (N. N.) et KORNILOW (I. W.). — Effet du chauffage à l'autoclave sur certains acides aminés en solutions neutre et acide. *Bull. Soc. chim.*; 1938, 5^e série, t. 5, 442-454.
- (88) GLEY (P.) et LAUR (C. M.). — Au sujet de la présence de polypeptidases dans le sérum des malades atteints de cancer. *Soc. Franç. d'hématol.*; 19 décembre 1940.
- (56) GOERNER (A. et M.). — Le métabolisme des composés du soufre dans le tissu tumoral. *Americ. Journal of Cancer*; 1932, 16, 360.
- (35) GOLDFEDER (A.). — Studien an chemischen Bestandteilen in Blute von Krebskranken. *Ztschr. f. Krebsf.*; 1934, 40, 394-409.
- (72) GOUBAU. — Etude biochimique d'un ostéosarcome globocellulaire. *Belgique Médicale*; 1912, 9, 423.
- (81) GRAFF (S.). — Glutamic acid of malignant tumors. *J. Biol. chem.*; 1939, 130, 13-17.
- (83) GRAFF (S.), RITTENBERG (D.) et FOSTER (G. L.). — Glutamic acid of malignant tumors. *J. Biol. chem.*; 1940, 133, 745-752.
- (45) GRÖBLY (W.). — Ueber die Bedeutung der Zellkern Stoffe (Nucléoprotéide) für den organismus. Eine studie zur Frage der endokrinen Secretion einerseits und der Krebsconstitution anderseits. *Arch. f. Klin. chir. Berlin*; 1921, 115, 170-260.

- (149) GRYNFELTT (E.) et HARANT (H.). — Présentation d'un graphique relatif à une greffe en série de la tumeur de Flexner-Jobling du rat albinos. *Bull. Ass. Franç. pour l'ét. du cancer*; 1933, 22, n° 9.
- (8) GUSSIO (S.). — Signification biologique et valeur diagnostique du quotient albumineux du sérum sanguin chez les cancéreux. *Tumori*; 1923, fasc. 1, p. 1.
- (138) HANKE (M. T.) and KOESSLER (K. H.). — The quantitative colorimétric estimation of histidine in protéine and protéin-containing matter. *Journ. of Biol. chem.*; 1920, 43, 527-542.
- (143) HAUSMANN (W.). — Ueber die Vertheilung des Stickstoffs im Eiweissmolekul. *Ztschr. physiol. chem.*; 1899, 27, 95.
- (55) HEINLEIN (H.). — Glutathionsgehalt und autolyse bösartiger Geschwülste. *Ztschr. f. Krebsf.*; 1932, 35, 161-163.
- (30) HIRSCH (M.). — Recherthes sur l'étiologie et le traitement du cancer. *Acad. des Sc.*; 23 décembre 1930.
- (18) HOOGENHUYZE (Van) (C. J. C.) und Verploegh (H.). — Ueber den Einfluss von Sauerstoffarmut auf die Kreatinauscheidung. *Zeit. f. physiol. chem.*; 1909, 59, 101-111.
- (115) HOPKINS (F. G.). — On a constituent autoxydable at the all. *Bioch. Journ.*; 1921, 15, 286.
- (89) HUGOUNENQ (L.) et MOREL (A.). — Sur un perfectionnement dans la technique d'hydrolyse des matières protéiques. L'emploi de l'acide fluorhydrique et ses avantages. *Bull. Soc. chim. France*; 1908, 3, 1146-1151.
- (92) JANNEY (N. W.). — Protein content of muscle. *J. Of. Biol. Chem.*; 1916, 25, 187.
- (133) JEAN (Mlle G.). — Sur les microdosages colorimétriques de l'arginine en solution pure et dans les hydrolysats protéiques. *Bull. Soc. chim. biol.*; 1934, 16, 307-309.
- (139) JORPES (E.). — The colorimétric estimation of histidine. *Biochem. J.*; 1932, 26, 1507-1511.
- (134) JORPES (E.) and THOREN (S.). — The use of the Sakaguchi réaction for the quantitative détermination of arginine. *Biochem. J.*; 1932, 26, 1504-1506.
- (12) KILLIAN (J. A.) and KAST (L.). — a) Some significant chemical changes in the blood coïncident with malignant growth. *Proceed. of the Soc. f. exp. biol. a méd.*; 1919, 16, 141.
b) A study of significant tumors. *Arch. Int. med. Chicago*; 1921, 28, 813-826.
- (19) KIMURA (Y.). — Ueber die biochemische Untersuchung des Harns von Krebs Ratten. *Japanese J. exp. M.*; 1928, 7, 113-134.

- (62) KOCHER (B. A.). — The hexone bases of malignant tumors. *Journ. of biol. chem.*; 1915, 22, 296.
- (80) KOGL (F.) und ERXLEBEN (H.). — Zur aetiologie der malignen Tumoren. *Verhandelingen der Koninklijke Nederlandsche Akademie van Wetenschappen*; Amsterdam, 1939.
- (82) KOGL (F.) und ERXLEBEN (H.). — Methodisches zur Isolierung der Glutaminsäure-Antipoden. *Ztschr. physiol. chem.*; 1940, 264, 198-219.
- (129) KOMM (E.). — Weiterer Beitrag zur Tryptophan-Aldehyd-Reaktion. *Ztschr. physiol. chem.*; 1924, 40, 74-79.
- (128) KOMM (E.) et BÖHRINGER (E.). — Ein Beitrag zur Tryptophan-Aldehyd-Reaktion. *Ztschr. physiol. chem.*; 1923, 124, 287-294.
- (113) KOSSEL (A.). — Ueber den gegenwärtigen Stand der Eiweiss-chemie. *Ber. d. Deuts. chem. Gessellsch.*; 1901, 34, 3214-3246.
- (63) KOSSEL (A.) und KUTSCHER (F.). — Beiträge zur Kenntniss der Eiweisskörper. *Ztschr. Physiol. chem.*; 1900, 31, 165.
- (9) KOTZAREFF (A.) et LEUBA (J.). — Sur les modifications du rapport protéinique dans les tumeurs. *C. R. Soc. Biol.*; 1930, 105, 853.
- (36) LABBÉ (M.) et MOUZAFFER. — L'aminoacidurie et les troubles du métabolisme azoté chez les cancéreux. *C. R. Soc. Biol.* 1924, 91, 1029.
- (120) LAFON (M.). — Quelques progrès récents dans l'analyse des besoins d'azote. *Bull. de la Soc. Scientif. d'Hyg. aliment.*; 1939, 27, n° 7, 8, 9, 10.
- (75) LANG (A.). — Der tryptophan gehalt von Tumoren. *Ztschr. f. Krebsf.* 1938, 48, 29-31.
- (131) LANG (A.). — Ueber den Méchanismus der Diacetyl-reaktion von guanidinen here Umformung und Anwendung zur Kolorimetrisch Bestimmung von Kreatin und Arginin. *Ztschr. f. physiol. chem.*; 1932, 208, 273-280.
- (41) LAVEDAN (J.). — Le séro-diagnostic des tumeurs malignes. *Paris méd.*; 1931, 79, 261-272.
- (50) LECLOUX (J.), VIVARIO (R.) et FIRKET (J.). — Teneur en glutathion du sarcome et des tissus normaux. *C. R. Soc. Biol.*; 1927, 97, 1823.
- (27) LIÉGEAIS (F.) et TERACHE (P.). — L'index-tyrosine des polypeptides sanguins chez les chiens porteurs de tumeurs. *C. R. Soc. Biol.*; 1937, 124, 571.
- (84) LIPMAN (F.), BEHRENS (O. K.), KABIT (S.A.) et BURCK (D.). — Détermination des acides aminés droits par la d-amino-oxydase. *Science*; 1940, 91, 21-23.

- (1) LOEPER (M.), FORESTIER (J.) et TONNET (J.). — a) L'hyperalbuminose paradoxale du sang des cancéreux. *Presse Médicale*; 1921, n° 34, 333; b) Les modifications humorales du sang des cancéreux. *Paris Méd.*; 1923, 47, 166.
- (13) LOEPER (M.), THINJ () et TONNET (J.). — L'équilibre azoté du sang des cancéreux; *Progrès méd.*; 1920, 35, n° 15, 159.
- (24) LOICQ (R.). — L'indice de polypeptidémie lors du cancer expérimental du cobaye au cours des tumeurs néoplasiques de l'homme. *C. R. Soc. Biol.*; 1935, 120, 250-253.
- (10) LOICQ (R.). — A propos des variations de la teneur du sang en fibrinogène au cours des affectations néoplasiques. *C. R. Soc. Biol.*; 1935, 120, 253-255.
- (14) LOISELEUR (J.). — Modifications du sang corrélative à la présence d'un cancer; *C. R. Soc. Biol.*; 1935, 120, 1038-1042.
- (40) LOISELEUR (J.). — Etablissement d'un indice d'histolyse pour représenter les modifications sanguines consécutives à la présence d'un cancer. *C. R. Soc. Biol.*; 1935, 120, 1158-1160.
- (101) LOISELEUR (J.). — Sur la mise en évidence d'une forme masquée de l'azote spécifique des états d'histolyse. *Bull. Soc. chim. biol.*; 1937, 19, 1059-1081.
- (34) MALAWAN (S. L.). — Untersuchungen uber Peptidspaltung durch Normal und Tumorgewebe. *Zeitschr. f. Krebsf.*; 1932, 37, 277-282.
- (122) MARENZI (A. D.). — Microméthode permettant de déterminer la cystine des protéines. *C. R. Soc. Biol.*; 1930, 104, 405.
- (102) MARTENS (R.). — a) Contribution à l'étude de l'azote peptidique dans le sang. *Bull. Soc. chim. biol.*; 1928, 10, 1336-1371.
b) Le double azote. De la nature des éléments qui le composent. *Bull. Soc. chim. biol.*; 1936, 18, 1551-1568.
- (90) MATHIEU (H.). — Recherches sur l'hydrolyse des protéines par les acides. *Journ. de Physiol. et de Pathol. générale*; 1909, 11, 393-398.
- (17) MELLANBY (E.). — Créatin and Creatinin. *Journ. of Physiol. Lond.* 1907, 36, 447-487.
- (96) MITCHELL (H. M.) and HAMILTON (T. S.). — The biochemistry of the amino-acids. *American chemical Society. Monograph. Series n° 48. The chemical catalog Company, Inc.* 1929, p. 100.
- (141) MOUROT (Mlle G.). — *Actualités scientifiques et industrielles.* Hermann et Cie édit. Paris. Physiologie Protides. 5; oct. 1937, déc. 1938; pp. 12 et suivantes.
- (142) MOUROT (G.) et HOFFER (O.). — Dosage de l'arginine et de l'histidine. *Bull. de la Soc. de chim. biol.*; 1938, 20, 274-292.
- (70) NEUBERG (C.). — a) Chemie zur Carcinomfrage. *Travaux de l'Inst. de Pathol. Berlin*, 1905, 2.
b) Weitere Beiträge zur chemie des Geschwülste. *Biochem. Zeit.*; 1910, 26, 344.

- (97) OSBORNE (T. B.) and JONES (D. B.). — A considération of the sources of loss in analyzing the products of protein hydrolysis. *Am. j. Physiol.* 1910, 26, 305-328.
- (61) OSBORNE (T. B.) und MENDEL (L. B.). — a) Beobachtungen über Wachstum bei Fütterungs Versuchen mit isolierten Nahrungsubstanzen. *Zeit. f. physiol. chem.*; 1912, 80, 309.
b) The role of gliadin in nutrition. *J. Biol. chem.*; 1912-1913, 12, 473-510.
- (58) OSBORNE (T. B.) und MENDEL (L. B.). — a) Maintenance expériment. with isolated proteins. *J. Biol. chem.*; 1912-1913, 13, 233-276.
b) Amino-acids in nutrition and growth. *J. Biol. chem.*; 1913-1914, 17, 325-349.
- (136) PAULY (H.). — a) Ueber die constitution des Histidins. *Zs. physiol. chem.*; 1904, 42, 508.
b) Ueber die Einwirkung von Diazoniumverbindungen auf Imidazole. *Ztschr. physiol. chem.*; 1905, 44, 159.
- (42) PETRY (E.). — Ein Beitrag zur chemie der malignen Geschwülste. *Zeitschr. f. physiol. chem.*; 1899, 17, 398-407.
- (21) PUECH (M.). — Polypeptidémie dans les maladies infectieuses fébriles et dans le cancer. *Bull. Soc. Sc. Méd. et Biol. de Montpellier*; 1926, 7, 147.
- (33) RAMOND (F.), PARTURIER (G.) et ZIZINE (P.). — La glycolyse au cours du cancer gastrique. *Bull. Soc. méd. Hop. Paris*; 1923, 47, 947.
- (20) RAMOND (F.) et ZIZINE (P.). — A propos de l'autolyse chez les cancéreux. *C. R. Soc. Biol.*; 1922, 87, 657.
- (6) REDING. — Teneur du sang des cancéreux en acides aminés, polypeptides, azote non protéique, serines-globulines et fibrinogène. *C. R. Soc. Biol.*; 1936, 123, 1238-1240.
- (26) REDING (R.). — a) Hyperpolypeptidémie provoquée, spécialement chez les cancéreux. *C. R. Soc. Biol.* 1938, 129, 881.
b) Production de processus malin par injections de substances protéiques. *C. R. Soc. Biol.*; 1940, 133, 450-453.
- (67) ROBIN (A.). — Constitution chimique des matières albuminoïdes dans le tissu cancéreux. *Les Néoplasmes*; Paris, 1926, 5, 65-72.
- (15) ROC (J. H.) et DYER (H. M.). — Etude chimique du sang des poules porteuses de sarcome de Rous n° 1. *Journ. Canc. Res.* 1930; 14, 301.
- (93) ROCHE (Mme A.). — Inanition protéique, réserves azotées et constitution des protéines musculaires. *Thèse doct. en méd. Marseille*; 1923, Imprim. G. Patissier (Trevoux).
- (121) ROCHE (J.). — Essai sur la biochimie générale et comparée des pigments respiratoires. Masson édit. Paris, 1936, 142.

- (79) ROFFO (A. H.). — Regresslon et élimination des tumeurs malignes du rat par l'hydrolysate de muscle strié. *Ass. franç. p. l'étude du Canc.* 13 déc. 1937.
- (150) ROFFO (R. H.) et THOMAS (J.). — La chimie du cancer. 1 vol. Vigot édit. Paris, 1933.
- (44) ROHDENBURG (G. M.) and BULLOCK (F. D.). — Notes on tumor genesis. *New-York M. J.*; 3 août 1912, 96, 222-296.
- (2) ROSA (Della). — L'hyperalbuminose du sérum sanguin chez les malades atteints de tumeurs malignes ou bénignes. *Archivio di patologia e clinica medica* (Bologne); 1923, 2, f. 6, 340.
- (59) ROSE (W. C.). — a) The nutritive significance the amino-acids and certain related compounds. *Science*; 1937, 86, 298-300.
b) The nutritive significance of the amino-acids. *Physiol. Rev.*; 1938, 18, 109-136. (Cet article comporte une importante bibliographie).
- (116) ROSE (W. C.) and WOMACK (M.). — The relation of leucine, isoleucine and norleucine to growth. *J. Of. Biol. Chem.*; 1936, 116, 381-391.
- (76) ROSENBOHM. — Der tryptophangehalt in Rattenorganen und in Tumoren. *Zeitschr. f. Krebsf.*; 1938, 48, 117-120.
- (66) ROUS (P.). — The influence of dieting upon the course of cancer. *Bull. of the John's Hopk. Hosp.*; 1915, 26, 146.
- (109) ROXAS (M. L.). — The reaction between amino-acids and carbohydrates as a probable cause of human formation. *J. Biol. chem.*; 1916, 27, 71-92.
- (49) SAÏKI (T.). — A study of the chemistry of cancer. *Journ. Of. Biol. chem.* 1910, 7, n° 1, 28.
- (23) SALMON (Massimo). — Hyperpolypeptidémie postopératoire. *Riv. di clin. méd.* 1935, 36, 365.
- (4) SANNIÉ (C.) et PEYRE (Ad.). — L'équilibre acido-basique au cours du cancer. *Bull. Ass. Franç. p. l'ét. du cancer*; 1926, 15, 199-212.
- (39) SAXL (P.). — Ueber die Störungen in Eiweisstoffwechsel Krebskranker. *Biochem. Zts.*; 1913, 55, 224.
- (31) SCHOONOVER (J. W.). — a) Blood glutathione in human cancer. *Americ J. Cancer*; 1935, 23, 311-314.
b) Plasma and Erythrocyte glutathione in human cancer, *Amer. J. Cancer* 1935, 23, 315-321.
- (64) SLYK (Van) (D. D.). — The analysis of proteins by determination of the chemical group characteristic of the different amino-acids. *J. Biol. chem.*; 1911-1912, 10, 15.
- (114) SLYKE (Van) (D. D.). — Improvements in the method for analysis of proteins by determination of the chemical group. characteristic of the different amino-acids. *J. Biol. chem.* 1915, 22, 281.

- (95) SÖRENSEN (S. P. L.) und JESSEN-HANSEN (H.). — Ueber die Ausführung der Formoltitrierung in Starkfarbigen Flüssigkeiten. *Biochem. Ztschr.*; 1907, 7, 407-420.
- (38) SURMONT (H.), TIPREZ (J.) et DRUART. — Azotémie et réaction de Botelho. *C. R. Soc. Biol.*; 1926, 95, 1563.
- (65) SWEET (J. E.), CORSON-WHITE (E. T.) and SAXON (C. G.). — The relation of diet and castration to the transmissible tumors of rats and mice. *Journ. Biol. chem.*; 1913, 15, 181.
- (1) THEIS (Ruth C.). — The protein content of the whole blood and plasma in Cancer. *Journ. Cancer Res.*; 1921, 6, 127-130.
- (11) THEIS (Ruth C.) and STONE (W. S.). — Composition du sang dans le cancer. *Journ. Cancer Res.*; 1919, 4, 349-346.
- (29) TRUHAUT (R.) et MINOPOULOS (E. G.). — Le glutathion du sang des cancéreux. *Bull. Ass. Franç. p. l'ét. du cancer*; 1932, 21, 717.
- (78) VLES (F.) et de COULON (A.). — Essais thérapeutiques à bases d'acides aminés sur les cancers spontanés de la souris. *C. R. Acad. des Sc.* 1933, 97, 1779-1781.
- (51) VOETGLIN (C.) and THOMPSON (J. W.). — Glutathione content of normal animals. *Journ. of. biol. chem.*; 1926, 70, n° 3, 793.
- (52) VOETGLIN (C.). — Glutathione content of tumor animals. *Journ. of. biol. chem.*; 1926, 70, n° 3, 801.
- (125) VOISENET (E.). — Sur une réaction très sensible de la formaldehyde et des composés oxygénés de l'azote et qui est aussi une coloration des matières albuminoïdes. *Bull. Soc. chim. Paris*; 1905, 33, 1198-1214.
- (85) WALDSCHMIDT-LEITZ (E.), MAYER (K.) und HATSCHKE (R.). — Sur l'apparition de d-peptidase dans le sérum à titre de réaction de défense. *Zeitschr. physiol. chem.*; 1940, 263, n° 6, 1-111.
- (132) WEBER (C. J.). — A modification of Sakaguchi's reaction for the quantitative determination of arginine. *Journ. of. biol. chem.*; 1930, 86, 217-223.
- (137) WEISS (M.) und SSOBOLEW (N.). — Ueber ein colorimetrisches Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Histidins. *Biochem. Z.*; 1914, 58, 119.
- (105) WHITEHORN (J. C.). — « Permutit » as reagent for amines. *J. Biol. chem.*; 1923, 56, 751-764.
- (57) WOODWARD (G. E.). — Glutathione and ascorbic acid in tissues of normal and tumourbearing albino rats. *Biochem. J.*; 1935, 29, 2405-2412.
- (54) YAOI (M.) et NAKARA (W.). — The glutathione contents of malignant tumors, especially the Rous chicken sarcoma. *Gann.* 1926, 20, 51. *Ans: Sc. Rep. from the Gov. for inf. Disease. Université de Tokyo*, t. 5.
- (48) YOSHIMOTO (S.). — Beiträge zur chemie der Krebsgeschwülste. *Biochem. Zeit.*; 1909, 22, 299.

TABLE DES MATIERES

	<i>Pages</i>
AVANT-PROPOS	9
INTRODUCTION	11
Les troubles du métabolisme des protides au cours du développement tumoral. Etat actuel de la question	22
 RECHERCHES PERSONNELLES	
CHAPITRE PREMIER. — Dosage titrimétrique des amino-acides dans les tumeurs par la recherche de « l'Indice-formol »	56
CHAPITRE II. — Dosage des composants chimiques des protéines tumorales (polypeptides, acides diaminés et monoaminés) après hydrolyse totale par les acides forts	70
CHAPITRE III. — Comportement des différents amino-acides considérés isolément vis-à-vis de l'hydrolyse acide à l'autoclave	102
CHAPITRE IV. — Hydrolyses successives à l'autoclave réalisées sur des protéines saines et tumorales, en des temps progressivement croissants et jusqu'à dissociation complète de la molécule albuminoïde	112
CHAPITRE V. — Dosage par les méthodes colorimétriques de quelques amino-acides fondamentaux contenus dans les tumeurs	123
Principe d'une nouvelle méthode de dosage de la lysine	142
CHAPITRE VI. — Application des recherches précédentes au cas des tumeurs expérimentales	156
Résumé et conclusions générales	165
Bibliographie	171

DEUXIÈME THESE

Propositions données par la Faculté

1° *Les auxines ;*

2° *Les Trématodes parasites de l'homme.*

Vu et approuvé :

Montpellier, le 3 mars 1943

Le Doyen de la Faculté des Sciences
de Montpellier,
P. MATHIAS.

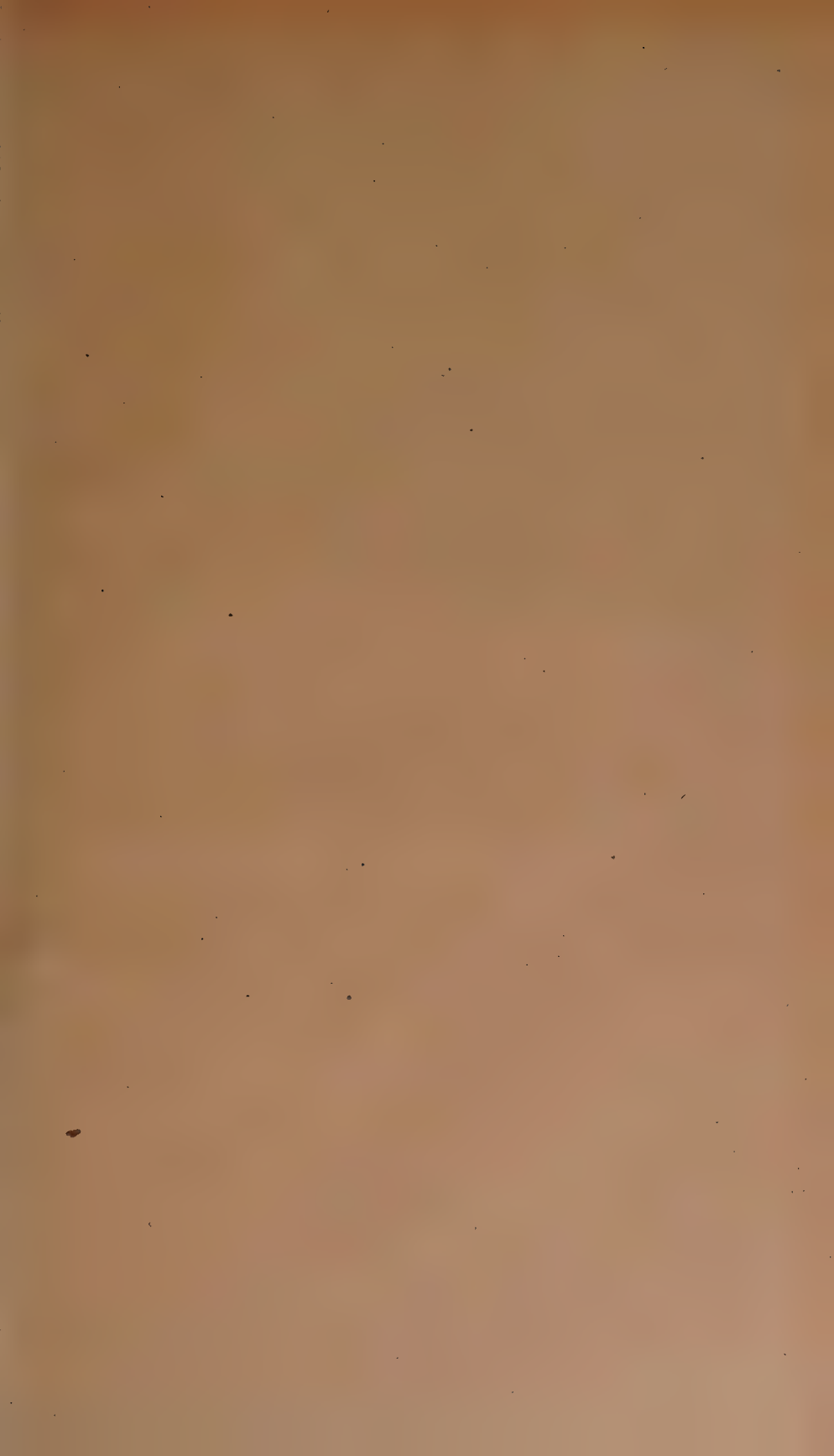
Vu

et Permis d'imprimer :

Montpellier, le 3 mars 1943

Le Recteur de l'Académie,

J. SARRAILH.



ERRATA

Page 16, dernière ligne. — *Lire* : très différente.

Page 37, 2^e ligne. — *Lire* : observe.

Page 45, 3^e alinéa, première ligne. — *Au lieu de* : on sait que les acides DIAMINÉS sont actifs, *lire* : on sait que les acides AMINÉS sont actifs.

Page 66, 3^e alinéa, 2^e ligne. — *Lire* : à l'autoclave.

Page 83, 12^e ligne. — *Lire* : réservés.

Page 92. — INTERVERTIR LES INDICATIONS PORTÉES SOUS LES FIGURES n° 4 ET n° 5.

Page 146, avant-dernier paragraphe, 2^e ligne. — *Lire* : acide chlorhydrique.

